

使用说明书：穿刺菌

取回载体信息

您订购的载体配有一个载体ID，它打印在穿刺菌的管壁上。您可以打开“载体家”网站的首页（www.vectorbuilder.cn），点击“取回载体信息”链接，打开页面，输入载体ID，即可取回载体图、载体序列和载体元件注释信息。

储存

您订购的载体以穿刺菌的形式常温寄送给您。这管穿刺培养物含有冷冻保护剂，可以直接放置-80°C长期保存，也可以用其制备一份甘油菌，备份保存，也可以直接放置4°C短期保存（≤2周）。

接种

穿刺菌由单克隆制备而成。您可以直接接种到LB培养液里进行培养，然后提取出质粒DNA，用于您的研究。少数情况下，您可能会遇到提取的质粒浓度低的问题。这个问题可以通过将穿刺菌划线到LB平板，挑取新鲜的单克隆进行培养这一方法克服。如果DNA产量仍然低，请重新转化，挑克隆接种LB培养液。

用穿刺菌接种的具体操作如下：取一个干净的小号枪头，沿着管中淡黄色的大肠杆菌生长线插入，再抽出来，反复操作几次，将沾了菌的枪头划线LB平板或者接种LB培养液。少数情况下，菌生长过慢的问题导致您不容易观察到明显的菌线，您可以将枪头插入管中央的位置1 cm深，抽出来，再插入四周几次，继而进行接种。

一些载体，特别是那些载体大小比较大、含有重复序列或者GC含量不正常的载体，复制过程中可能会出现载体序列重组的现象，例如片段缺失。如遇此类问题，将LB平板或LB培养液放置30°C培养（非常规培养温度37°C），一定程度上可以减少质粒复制不稳定的可能性。

抗生素浓度

您订购的载体的原核抗性打印在穿刺菌的管壁上。请按照这个抗性制备含有以下推荐浓度的相关抗生素的LB平板或者LB培养液。

氨苄青霉素 (Ampicillin) : 100 µg/ml
卡那霉素 (Kanamycin) : 50 µg/ml
氯霉素 (Chloramphenicol) : 34 µg/ml
四环素 (Tetracycline) : 5 µg/ml
链霉素 (Streptomycin) : 50 µg/ml

宿主菌

请注意打印在穿刺菌管壁上的E. coli宿主菌信息。大多数载体构建时所用的克隆菌株是利于载体稳定的VB UltraStable菌株。对于某些应用，需要使用到其他菌株。例如，从pET这类载体表达重组蛋白需要用到带有T7 RNA polymerase基因的大肠杆菌，如BL21(DE3)。因此，需要将载体DNA重新转化到合适的菌株中。