

菌种说明

提示：请严格按照说明书操作,如未按说明书操作,本中心不承担售后。

感谢您使用上海保藏生物技术中心（SHBCC）提供的微生物菌种。本中心目前有标准菌种（斜面、甘油菌、穿刺菌和冻干粉四种形式）、基因工程菌种（斜面、甘油菌和穿刺菌三种形式）、食用益生菌和工业发酵菌种，基本涵盖了环境、工业、农业、分析、食品、药用真菌等各类生产和科研微生物。

一 菌种简介

菌种名称	大肠杆菌 phi-x174 噬菌体 （宿主细胞为：ATCC 13706，需要单独购买）
编号	SHBCC D24641=ATCC 13706-B1
规格	冻干粉
菌种主要应用	

二 保存条件 斜面、穿刺菌和冻干粉可常温运输，但应在 4-10 度长期保存。甘油菌可常温运输，但应在 -80 度长期保存。微生物菌种应保存于低温、清洁和干燥的地方，室温放置时间过长会导致菌种衰退。

三 培养条件

培养基	营养琼脂/营养肉汤
培养温度	37 度
培养时间	2-3 天（长出嗜菌圈则可停止培养）
培养条件	需氧培养

四 活化步骤

(1) 宿主细菌的准备：从划线有宿主菌的平板上挑取大肠杆菌单菌落，接种至 3ml 营养肉汤培养基，37 度摇菌过夜至浑浊。然后按照 1% 的接种量取 0.5ml 的菌液接种至 20ml 的营养肉汤培养基里面，37 度摇然后测 OD600=0.2-0.3 时，马上进行第 (2) 步。

(2) 噬菌体的活化：冻干粉首次活化，将菌粉甩至底部，将尖头一侧用酒精消毒后敲开，取 0.2-0.3ml 溶解液加入至菌种管中，轻轻弹至菌粉混合均匀，用无菌吸头全部吸出溶解液，全部接种至 (1) 中准备的 20ml 的宿主菌液中（注意真空菌种管一旦敲开里面的冻干粉就必须全部被用掉，留着也没用。），37 度继续培养 2-3 天（培养后的菌液可以 4-10 度保存 6 个月），然后取一部分菌液用无菌的 0.22um 的过滤头过滤，收集过滤液（里面含有噬菌体），可以 4-10 度保存 1 个月。

(3) 噬菌体的验证：取 (2) 中的收集的过滤液滴加几滴至涂布了宿主菌种的营养琼脂培养基上（取 OD600=0.2-0.3 吸光值的宿主菌液 100ul 涂布）。然后 37 度培养 24 小时。

(4) 噬菌体的判定：如果在滴加了噬菌体位置的地方出现了透明的噬菌斑，则说明活化成功。那么第 (2) 步中的菌液可以与 50%甘油等体积混合，-80 度长期冻存。

如果有不明白之处，应先与我中心联系，避免不必要的损失(021-59199805,微信：18049726547)。

五 注意事项

- 1 微生物菌种应保存于低温、清洁和干燥的地方，室温放置时间过长会导致菌种衰退；
- 2 菌种操作在无菌条件下进行，接种完毕应该灭菌再做丢弃处理；
- 3 斜面菌种和穿刺菌种保存时间通常为 3-6 个月，应根据菌种状况及时结转；冻干粉保存时间通常是 2-25 年；甘油菌保存时间为 2-5 年。