

GV2260 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bat-2001)

GV2260 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ C/大于 10 年
YEB 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	—

● 基因型

C58 (rif^R) Ti pGV2260 (pTiB6S3 Δ T-DNA)(carb^R) Octopine

● 产品说明

GV2260 菌株为 C58 型背景, 核基因中含有筛选标签——利福平抗性基因 rif, 为了便于转化操作, 此菌株携带一无自身转运功能的胭脂碱型 Ti 质粒 pGV2260 (pTiB6S3 Δ T-DNA), 此质粒含有 vir 毒性基因 (vir 基因是 T-DNA 插入植物基因组必需的元件)。pGV2260 (pTiB6S3 Δ T-DNA)质粒 T-DNA 区的左右两侧的 T 被删除, 被来源于 pBR322 的序列取代, 含有筛选标签:carb, 赋予 GV2260 菌株羧苄青霉素抗性, 同时 GV2260 有弱的链霉素抗性。pGV2260 (pTiB6S3 Δ T-DNA)Ti 质粒中无效序列及重复序列被删除, 具有更简洁、高效的 DNA 结构, 对部分单子叶植物如水稻、玉米和番茄、烟草等茄科植物感染效率比其他农杆菌提高 20-50%, 适用于拟南芥、烟草、茄子、辣椒、番茄、土豆、斑茅等植物的瞬时表达和稳定遗传转化操作。本产品为二代甘油菌株(一代种扩增两个世代后保种), 未经过大量扩繁, 核 DNA 及表型稳定, 菌落表型及生长曲线与原种匹配度大于 99.5%。

● 操作方法

1, 客户收到菌株后, 不可直接吸取菌液接种扩繁。应先对菌种进行复壮, 待长出单菌落后挑单菌落接菌扩繁; 复壮方法如下: 在超净台打开盖子, 用接种环沾取少量甘油菌液采用交叉划线法(图 1)在 YEB 平板表面轻轻划线(注意: 不要刺破培养基), 将平板封口后放 30 度培养 3-5 天, 即可长出单菌落。

2, 交叉划线法: 划线的目的是经过几次不连续划线达到梯度稀释菌液的效果, 保证能长出单菌落。具体步骤如下:

A, -80 度取出的甘油菌应在超净台打开盖子, 立即在表面挑取菌液/菌块划线, 不用等融化后划线, 固体状态时即可用接种环挑取划线, 操作要点是“快速操作, 立即划线”, 目的是最大限度减少温度波动对菌种造成的“冷休克”和冰晶物理损伤; 如果收到的是液体甘油菌, 可直接划线, 在超净台打开盖子用接种环沾取少量甘油菌液划线。

B, 取出无菌接种环, 注意不要污染, 图 1 所示为标准的五段交叉划线法, 分五个区, 每个区划三条直线, 第 1、2 区可共用一个接种环, 划好 1、2 区后换一个新接种环划第 3 区, 再换一个新接种环划第 4 区, 再换一个新接种环划第 5 区, 每一次换接种环划线要经过前面划线区的划线痕迹, 这样就相当于对菌种进行稀释。简易划线也可只划 3 个区或 4 个区。

C, 客户也可用金属接种环灼烧后划线; 本公司提供的接种环为 ABS 材质, 不可灼烧。

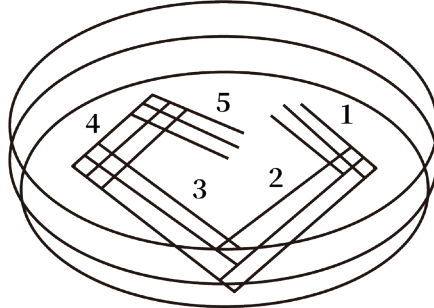


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 注意事项

- 1, 客户收到二代甘油菌株后, 应立即放-80度保存, 不可放-20度保存。
- 2, 应减少甘油菌冻融的次数, 冻融的次数越多, 菌种的活力越低;
- 3, 若扩繁菌种, 注意一次扩繁不要超过四个世代, 以保证菌种基因组的稳定; 扩增后重新保存的菌种必须对菌种做表型、功能验证, 所有表型、功能保持完好的菌株才能作为菌种使用。