

K599(pSoup) 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bar-1082)

K599(pSoup) 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ C/大于 10 年
TY+tet10 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	——

● 基因型

Agrobacterium rhizogenes (str^R) pRi2659 (agropine type)(pSoup-tet^R)

● 产品说明

发根农杆菌是根瘤菌科(Rhizobiaceae)农杆菌属(agrobacterium)的一种革兰氏阴性土壤细菌,它能够感染大多数双子叶植物和少数单子叶植物以及个别裸子植物。K599 发根农杆菌 (NCPPB2659) 含有 pRi2659 农杆菌型 Ri 质粒,具有广泛的宿主范围(葫芦科,豆科,茄科等),同时具有链霉素抗性。在 K599 菌株中转入 *h*elp 质粒: pSoup 即为 K599(pSoup) 菌株,可帮助 pGreen, 62SK, pGs2 系列质粒在农杆菌中复制,同时赋予该菌株四环素(tet)抗性。本产品为二代甘油菌株(一代种扩增两个世代后保种), 未经大量扩繁,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 TY+tet10 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。

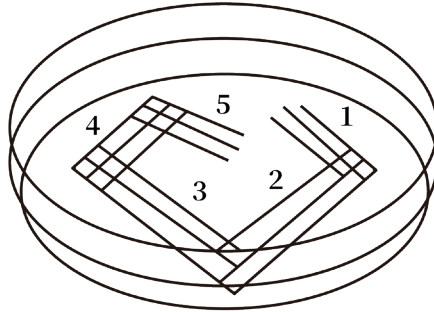


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。