

Plant Preservative Mixture (PPM) 植物组培抗菌剂

产品简介

植物组培抗菌剂 (Plant Preservative Mixture, PPM) 是一种广谱抗微生物剂, 可以杀死细菌和真菌细胞, 防止真菌孢子的萌发, 并在较高浓度下能消除内源性污染的外植体。研究表明 PPM 活性成分可以穿透真菌或细菌细胞壁, 抑制柠檬酸循环和电子传递链等中心代谢循环中的关键酶的活性, 并且可以抑制培养基中的单糖和氨基酸向真菌和细菌细胞的运输。PPM 能有效地抑制植物细胞和植物组织培养中的通过空气、水、人传播的微生物污染及内源性污染, 而不会影响体外种子发芽、愈伤组织增殖和愈伤组织的再生。

产品优势【与传统的植物组培抗微生物剂相比】:

1) 适当浓度下不会影响大多数植物生长; 2) 极低浓度即可维持无菌的培养环境; 3) 可预处理新生种子或清洗组织; 4) 热稳定性强, 高压灭菌非常稳定; 5) 比传统抗生素价格更低廉, 可作为组培培养基内的标准成分, 并作为常规使用; 6) 靶向抑制多种酶活性, 植株产生耐药性的几率非常低;

外观: 清澈, 透明至琥珀色溶液, pH 3.8

保存和稳定性: 4°C, 3 年有效

产品组成

名称	FS0015	FS0015	Storage
Plant Preservative Mixture (PPM)	25ml	100ml	2-8°C
使用说明书	1 份		

使用方法

1、消除低密度污染

PPM 是酸性的溶液 (pH3.8), 一般内源性污染, 推荐剂量是 0.05-0.2%。对于愈伤增殖、器官形成和胚胎形成, 推荐的剂量范围是 0.05-0.075%。在培养基灭菌前或灭菌后加入 PPM, 可防止低密度的或生长缓慢的细菌通过空气传播的污染和内源性污染, 处理内源性污染或获得无农杆菌的植物材料需要高剂量的 PPM。

2、消除高密度污染

要消除高密度污染, 需要增加 PPM 的剂量

(a) **对于种子:** 添加 2~3% PPM 在一般习惯使用的培养基里, 但千万不要添加 Tween 20 和 pH 调整剂, 轻轻地搅拌 8~12 小时, 之后直接拿出放入含有 PPM 的培养基里, 若是草本植物换至 0.05~0.1% PPM 的萌发培养基即可; 而木本植物则换至 0.2% PPM 的萌发培养基。对于种皮较硬的种子 (比如芦笋、羽扇豆属植物、观赏棕榈、玫瑰等) 应该在用 PPM 灭菌前先在水中浸泡 2-4 个小时。

(b) **对于外植体:** 以 1cm 长的外植体 (或者更短) 为例, 添加 4~5% PPM 到全 MS 基盐中, 但不要添加 Tween 20 和 pH 调整剂, 搅拌 4~12 小时之后无需冲洗直接插入含有 PPM 的培养基里, 若是草本植物换至含 0.05~0.1% PPM 的培养基即可; 而木本植物则换至含 0.2% PPM 的培养基。

(c) **对于块茎, 球茎和鳞状物:** 把整个块茎/球茎/鳞状物在漂白剂里揉或搅拌。然后用水冲洗 (可以在非无

菌条件下操作)。把块茎/球茎切成薄片, 在含有 4-5% PPM 的全基盐中摇或搅拌 12-24 h, 不要加 pH 调整剂和 Tween 20。不用冲洗直接插入到含有 0.1-0.2% PPM 的培养基中。

【注】: 如果按照以上操作流程没有得到满意的结果 (尤其是厚的和非常密集的外植体, 种子) 我们建议以下流程:

(a) 在水中摇或搅拌外植体 (较软的组织 1 h, 较坚硬的组织 2 h)

(b) 将外植体在含有 50% PPM 的全 MS 基盐中 (不加 pH 调整剂和 Tween 20) 摇或搅拌 5-10 min。

(c) 无需冲洗, 直接把外植体插入到培养基中。如果真菌污染, 可以选择额外再加入 PPM 到培养基中。

然而, 细菌或混合污染, 第一个月在培养基中加入 0.05-0.2% 的 PPM 是必要的。不要丢弃高度氧化的外植体, 因为大约 50% 的外植体在 4-6 周内即可恢复。

3、为了消除“组培中”污染的植物材料(抢救措施): (注意: 明显地污染不超过一周的组织)

(a) 在自来水细水流下面用牙刷清洗材料。在含有 50% PPM (用灭菌水稀释) 中摇或搅拌 5-15 min。对于细菌或混合污染, 我们建议用低 pH 值 2.8-3.2 的溶液, 即 100% PPM 与 0.6g/L 的柠檬酸溶液 (用灭菌水) 按 1: 1 混合。

(b) 不用冲洗直接把处理好的材料插入到含有 0.05-0.2% PPM 的培养基里, 培养至少一个月。前 10 天弱光培养, 像上面提到的一样, 不要丢弃高度氧化的外植体, 等 4-6 周以后将有约 50% 的材料可恢复。

如果真菌孢子或细菌位于外植体的内部而 PPM 无法接触到的情况下, 把材料在水中浸泡一段时间, 然后沿着外植体切片, 在 50% PPM 中摇或搅拌 5-15 min。

通过以上所有消毒步骤, 保证 PPM 能够充分接触到外植体的整个表面。

4、对于消除农杆菌: 共培养之后, 用水冲洗叶盘。然后把转染的叶盘在含有 100% PPM 的全基盐中蘸 (整个叶盘) 约 2 min。用两张无菌纸中吸干后放到含有常用抗生素的培养基上。三周后, 转到只含有 0.05-0.075% PPM 的培养基上。

注意事项

1) 用 PPM 消毒后首次转移的材料, 我们建议把整个外植体插入半固体培养基中。

2) 50% PPM 溶液能重复利用大约 5-10 次。重复利用的次数取决于所处理外植体的体积和接种密度。保存 50% PPM 在 4℃ 以延长它的活性。如果必要, 准备两种 PPM 消毒液: 一种是灭菌内源性污染, 第二种是灭菌“组培中”的污染。用第二种消毒溶液处理材料后都要用 0.2 μm 的滤膜滤灭, 滤灭过程可以非无菌条件下完成。一个滤器能用于溶液滤灭的整个过程。

3) 如果用 50% PPM 处理材料效果仍不佳, 可以用 100% PPM。处理方法跟 50% PPM 相似, 但处理时间不要超过 10 min。

4) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。