

PPM -- Plant Preservative Mixture

Plant Cell Technology

植物保存混合物(PPM)在植物組織培養中使用,是一種強而有力的廣效型抑菌劑配製成,影響在 Krebs cycle 和電子傳遞鏈中的關鍵酵素,PPM 針對細菌和真菌在植物組織培養生長介質,以及污染組織,有很強抑菌效果。除此之外,PPM 也可以用作生物抑制化合物作為預防措施。與植物生長培養基稀釋可做為有效的殺微生物劑(如殺菌劑和殺真菌劑)。

PPM 對於大多數種子植物,如:被子植物以及裸子植物是有效的,但是,不建議在蕨類、苔蘚、藻類和水生植物的使用,效果可能有限。

PPM 是一個很好的工具可預防和消除培養的污染。

優勢:

- 專利配方,有效抗真菌
 - ◇ 可抑制一般細菌/真菌生長及真菌孢子萌發
 - ◇ 不影響植物種子萌發、癒傷組織 (Callus) 增殖及再生
 - ◇ 已經汙染的植物也可消毒
- 價格經濟,可長期使用
 - ◇ 和抗生素相比價格十分低廉,可大量使用
- 廣效型,無抗藥性
 - ◇ PPM 可穿過細菌或真菌細胞壁,同時抑制多個代謝途徑,不易產生抗藥性
 - ◇ 抑制細菌及真菌的單醣傳輸及胺基酸吸收
- 非毒化物,安心使用
 - ◇ 配方中不含任何毒化物,無須擔心植物移出培養環境後,殘留毒物
- 耐熱,可 autoclave
 - ◇ 可在滅菌前加入培養基,一起 autoclave
 - ◇ 也可在滅菌後加入培養基,無需等待降溫
- 簡化操作流程
 - ◇ 加入 PPM 後的培養基可在 Laminar Flow 外直接分裝
 - ◇ 原本需要過濾滅菌的成份,可以省去過濾步驟,直接加入培養基中



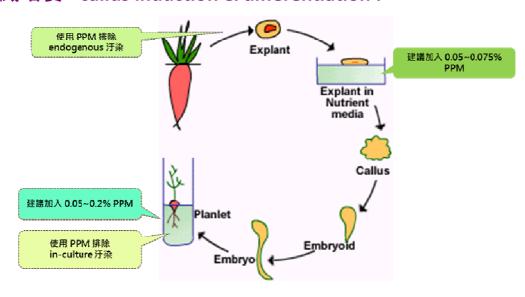
PPM 配方表	維護 (一般使用)	消毒	農桿菌
使用濃度	0.05 - 0.2%	5.0%	0.05%
處理時間	持續使用	4 – 12 hours	持續使用
說明	剛分離出的 protoplast 或 callus 建議使用 0.05 ~ 0.075 % 以免產 生毒性或不良反應		可以和抗生素合併 使用

- * 不同種類的植物組織,請實際測試,找出最佳使用濃度。
- *請確認所有消毒步驟中, PPM 有充分接觸外植體表面
- * 排除汗染建議使用 50% PPM 浸泡





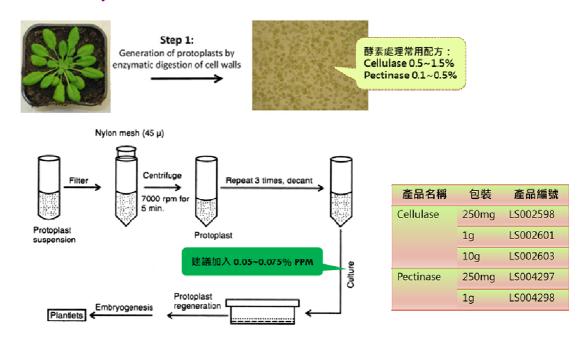
植物組織培養 - callus induction & differentiation:



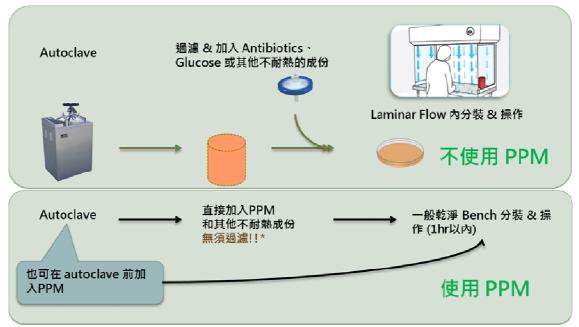
植物組織培養 - in vitro germination:



植物組織培養 - Protoplast:



培養基配製流程簡化:



- * 含 200mg/L 以上蛋白質的 rich media , 建議仍然要過濾
- * 若在 Laminar flow 內操作,使用器具無須過火,只需要定期浸泡 70%酒精即可

種子萌發/農桿菌汙染排除操作流程:

- *In Vitro* Germination :(種子萌發)
 - 一般種子外皮含有高濃度細菌或真菌孢子,因此建議使用漂白水消毒表皮。
 - 消毒完畢的種子,可用自來水沖洗乾淨,並放在 Laminar flow 中乾燥。
 - 將種子放入含 0.05-0.2% PPM 培養基培養。
 - 操作過程中,若器具曾接觸到細菌或真菌孢子,或有任何汙染的疑慮,建議 autoclave 或高熱滅菌。
- 農桿菌汗染排除
 - 用水沖洗 co-culture 的葉片 discs,將 discs 浸泡到 100% PPM 培養液中約 2 分鐘。
 - 用 2 張滅菌擦手紙將 discs 輕輕壓乾,放上含抗牛素的培養基中培養。
 - 3 周後轉換成含 0.05-0.075% PPM 培養基中培養

觀賞植物操作流程:

- 一般操作方法
 - 塊莖/鱗莖/鱗片整顆放入漂白水中消毒後,用清水沖洗乾淨 (不須無菌操作)。
 - 將塊莖/鱗莖/鱗片切片後放入含 4~5% PPM 培養液 (溶於 1X MS 培養基,不調整 pH 值,不加 Tween 20) Shaking 12-24 小時,直接放入含 0.1-0.2% PPM 培養基培養。
- 針對較厚、高度污染的外植體或是種子,若上述方法無法完全排除汙染,請參考下列步驟:
 - 1. 將外植體浸泡在水中 Shaking/Stir (軟組織 1 小時,硬組織 2 小時)
 - 2. 將外植體浸泡在 50 % PPM 培養液中 5-10 分鐘。
 - 3. 將外植體直接放入培養基中培養。若有細菌或混合性汙染,剛開始的一個月,請加 0.05-2% PPM 到培養基中。高度氧化的外植體有 50% 可以在 4-6 周內恢復健康,因此請勿丟棄。

汙染排除操作方法:



- 内生性汙染 endogenous contamination
 - 1cm 以下 Explants 用含 4~5% PPM 培養液 (溶於 1X MS 培養基,不調整 pH 值,不加 Tween 20),Shaking 4~12 小時,直接放入含 PPM 培養基培養 (草本植物 0.05~0.1%;木本植物 0.2%)
- 培養中污染 in culture contamination (觀察到汙染不超過一周)
 - 請用自來水搭配軟毛牙刷將汙染源沖洗乾淨。浸泡 50% PPM 5-15 分鐘。
 - \bigcirc 針對細菌或混合性汙染,建議將 100% PPM 與 0.6g/L citric acid solution 等比例混合,使 pH 值 降為 2.8-3.2,再用來處理污染的植物。
 - 將消毒完畢的外植體放入含 0.05-0.2% PPM 的培養基,培養至少一個月。前 10 天應避免植株 照射高光強度光源。高度氧化的外植體有 50% 可以在 4-6 周內恢復健康,因此請勿丟棄。
 - 有些細菌或真菌孢子會卡在 PPM 接觸不到的地方。對於這種情況,請把外植體單獨切片並浸泡 50%PPM 5-15 分鐘。

注意事項:

- 請確認所有消毒步驟中, PPM 有充分接觸外植體表面
- 使用 PPM 消毒後,建議使用質地較軟的 semi-solid 培養基 (通常 agar 含量為 0.4%)。
- 50% PPM (使用無菌水配置) 不建議但可以重複使用。可重複使用次數與處理的外植體數量及細菌/真菌密度有關。若需重複使用,請將 50% PPM 保存在 4 度冰箱中。建議配置兩瓶 PPM,一瓶用來處理內生性汙染,另一瓶用來處理培養中產生的汙染。後者每次使用完畢在無菌環境下,用 0.2 um filter 過濾,Filter 可重複使用到更換新的 50% PPM 為止。
- 若 50% PPM 仍無法去除汙染,建議使用 100% PPM。使用方法和 50% PPM 相同,但處理時間 請勿超過 10 分鐘。

產品資訊:

包裝	30 mL	100 mL	500 mL	11
產品編號	PE-30	PE-100	PE-500	PE-1000
可配置培養基量 (0.05%)	60L	200L	1000L	2000L

*保存溫度:4度保存約1年(詳見瓶身標示)

* 外觀:透明無色到淡黃色液體

* pH : 3.8

*冷凍可保存5年(不可反覆冷凍/解凍)

*配置好的培養基室溫可保存一個月以上



