

拟南芥营养液/PNS 营养液使用说明书

产品货号：NS1060-1L（1000×，3种母液）

储存条件：短期常温储存，避免阳光直射；长期 2-8℃ 储存。

运输条件：常温运输

Coolaber 出品的 1000× 拟南芥营养液（NS1060），也有实验室称为 PNS 营养液，分为 3 个组分，2-8℃ 可储存 1 年，分别称取 3 次即可快速配制 pH 值为 5.7 的营养液，无需调整 pH 值。使用方便快捷。

产品组成	成分	工作液浓度 (mg/L)	储存液 (g/L)
大量元素 A (1000×, 1L)	KH ₂ PO ₄	34	34
	MgSO ₄	60	60
大量元素 B (1000×, 1L)	KNO ₃	202	202
	NH ₄ NO ₃	40	40
	Ca(NO ₃) ₂	472	472
微量元素 (1000×, 1L)	H ₃ BO ₃	1.546	1.546
	MnCl ₂	0.396	0.396
	ZnSO ₄	0.575	0.575
	CuSO ₄	0.125	0.125
	KCl	3.725	3.725
	CoCl ₂	0.035	0.035
	(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.093	0.093
	FeNaEDTA	16.8	16.8
产品性状	大量元素 A、大量元素 B 无色澄清；微量元素棕色澄清		
实测工作液 pH 值	5.7		

使用方法:

1. 根据用量, 分别称取相同体积的三种储存液, 依次加入 1000 倍体积的水中, 混匀。
2. 本品配制完成后 pH 值为 5.7, 无需调整。如有特殊要求, 可根据要求调整 pH 值。
3. 施入配制好的营养液。

注意事项:

1. 大量元素低温储存可能会有析出情况, 恢复常温完全溶解即可使用。
2. 三种母液不要同时加入, 避免产生沉淀。

拟南芥培养方法:

拟南芥生长的适宜温度白天为 22℃-24℃, 夜温 20-22℃, 适宜的湿度为 60-70%, 生长期适宜的光强为 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{S}^{-1} \cdot \text{M}^{-2}$ (6 支 36W 日光灯下 35cm 处测得)。幼苗期不耐高光强, 可适当遮荫。光质也较重要, 应选用植物生长专用的日光灯。拟南芥属于长日照植物, 在日照长于 12 小时下才会开花, 一般拟南芥生长室的日照长度定于 14-16h 为佳。

1. 准备育苗培养基: 2.29 g/L 1/2 MS (PM1061), Sucrose (CS10581) :10 g/L, pH5.7, Agar (CA1331) :0.7-0.8 %。121℃灭菌 15 分钟, 60℃左右在超净台内分装入直径 100mm 培养皿 (25 mL)。

2. 种子消毒: 种子放在 1.5mL 离心管中, 加入 1 mL 的种子消毒液 (2% NaClO (市售 10%溶液) 和 0.1% Triton-X100), 消毒 10 min (移液器反复吸吹), 用无菌水洗 5 次以上 (移液器反复吸吹)。

3. 点种: 种子里可多加些水, 用移液器吸取种子, 均匀铺到培养皿上, 可根据需要选择种植的密度 (一般不超过 30 株, 不要太密, 否则根缠在一起不好移苗), 用移液器吸除培养基表面上的水, 并置于超净台内吹干培养皿表面上的水, 密封盖子, 4℃暗处理两天后 (春化), 移到光照培养箱 (22 ℃, 光周期 12 h), 两周后再移苗。若种子较密, 光照培养箱中生长 1 周则要移苗, 且需适当遮荫。

4. 移苗: 将蛭石与珍珠岩按 3:1 的比例混好作为基质, 装入营养钵, 将营养钵放入不透水的平底塑料育苗盘, 在育苗盘中加水至 3 cm 高, 水就会通过营养钵的底孔渗入, 待基质湿透即可移苗。用镊子轻轻从培养皿中连根拉出小苗, 把根平放在蛭石表面, 用镊子把根轻轻压入基质内, 移苗后用保鲜膜覆盖营养钵 3-4 天。从苗期直至开花, 每隔 2-3 天浇一次水, 始终保持育苗盘内有 1-3 cm 的水层, 整个生长期浇 3-4 次拟南芥营养液 (NSP1060)。在收种期, 不要浇水, 保持育苗盘干燥。

5. 收种: 在种荚变黄, 变干时收种。将种子抖落容器内, 收集后用筛网除去杂质, 将种子装入小纸袋中, 标记好, 置于干燥的环境中待种子进一步干燥后, 封存于 1.5mL 离心管。

拟南芥的转化方法：

渗透培养基配制：2.29g/L 1/2MS（大量元素减半）；5% 蔗糖；0.5% MES；用 KOH 调至 pH5.7；再加：10 μ l/L 的 6-BA 母液(1 mg/mL，乙醇溶解)；200 μ l/L Silwet L-77(在蔗糖溶解后加入，否则蔗糖很难溶解)。经转化的拟南芥，种子收获后需在相应的抗性平板上筛选转化子。

1. 准备好已转化了相应质粒的农杆菌菌液 10 mL，转入 200 mL 大瓶过夜培养，农杆菌液 OD600 在 1.2-1.6 即可。

2. 室温 5000 rpm 离心 15 分钟。

3. 弃上清，将农杆菌沉淀悬浮于相应体积的渗透培养基里，OD600 在 0.8 左右为宜。

4. 直接将拟南芥的花浸入农杆菌悬浮液，持续几秒钟，取出再浸入，反复 3-5 次。浸染后的植株平放在带有盖子的育苗盘中，或者用保鲜膜盖好，以保持湿度。移入恒温室避光培养 24 小时，第二天揭膜，正常光照培养。

转化子的筛选：

1. 种子消毒：用种子消毒液（2% NaClO 和 0.1% Triton-X100）处理 10 分钟（移液器反复吸吹）；然后用无菌水洗 5 次（移液器反复吸吹）。

注意：消毒时间不宜过长，否则影响种子发芽。

2. 处理后的种子用移液器均匀涂布在固体筛选培养基表面。不宜过密，切忌将种子堆叠在一起。如种子特别容易污染，可在固体筛选培养基中加入工作浓度为 250 μ g/mL 的头孢霉素（SL4090）抑制农杆菌的生长。

3. 4℃避光春化 2 到 3 天，移入 22℃恒温箱培养。

4. 观察种子在固体筛选培养基上生长情况，相比于其他萌发的幼苗，具有长根的幼苗可确定为转化子时，将转化子移栽至浇透拟南芥营养液（NSP1060）的人工基质上培养。