


© DSMZ GmbH	Version: 1.0	Stand: 15.04.2008	Seite 1 von 1	
Dokument:	Medienhinweis			
Titel:	Phagenhinweise allgemein deutsch			

Abgabe, Aufbewahrung und Vermehrung von Phagen

Abgabe und Aufbewahrung

Phagen der DSMZ werden üblicherweise als zellfreie Lysate in Komplexmedium (bakterienfreier Überstand) abgegeben. Die bakteriellen Wirtszellen und Zelldebris sind durch Zentrifugation und Filtration eliminiert. Neu hergestellte Chargen von Phagensuspensionen werden hinsichtlich Phagentiter, Plaquemorphologie und -einheitlichkeit geprüft. Normalerweise handelt es sich bei den Phagensuspensionen um Hochtiter-Suspensionen zwischen 1×10^8 /mL und 1×10^{11} /mL (pfu/mL = plaque forming units/mL). Alle Phagen sollten sofort nach Empfang kühl gelagert, jedoch keinesfalls eingefroren werden. Phagenlysate können in flüssigem Stickstoff für Langzeit Zwecke unter Zugabe eines Gefrierschutzmittels gelagert werden. Die im Kühlschrank ungefroren gelagerten Phagen überleben ohne signifikante Verluste meist einige Monate, dafür kann jedoch keine Garantie seitens der DSMZ gegeben werden. Im Falle lyophilisierter Phagen bitte den gesonderten Hinweis (auch auf unserer Homepage) beachten. Die DSMZ liefert biologisches Material zur sofortigen Verwendung und ausschließlich für Laborzwecke gem. der **Allgemeinen Geschäftsbedingungen**.

Phagenvermehrung/Propagation

Bitte verwenden Sie für jeden Phagen den angegebenen Wirtstamm (s. Homepage). Die DSMZ hat normalerweise nur mit diesem jeweiligen Wirtstamm Erfahrungen und garantiert daher nicht für erfolgreiche Phagenvermehrung mit anderen Bakterienstämmen. Neue Phagensuspensionen können direkt aus den gelieferten Lysaten hergestellt werden. Prinzipiell kann Lyse in Flüssigkulturen oder auf Agarplatten durchgeführt werden. Erfolgreiche Flüssiglyse wird durch Aufklaren sichtbar, wobei der Zeitpunkt der Lyse zu beobachten ist, da sich z.B. bei Übernacht-Inkubationen phagenresistente Bakterien durchsetzen, wachsen und eine nicht erfolgte Lyse vortäuschen. Lyse auf Platte geschieht durch Erscheinen der Plaques. Titer (Verdünnungsreihe!) und Reinheit eines Phagen können nur auf Platten ermittelt werden; gleichzeitig können Platten mit hoher Plaquezahl zur Gewinnung einer neuen Phagensuspension verwendet werden („Floating“/Abschwemmen mit geeignetem Puffer). Sterile Bedingungen sind in jedem Fall einzuhalten. Dazu können die Platten auf einem Schaukel-Schüttler leicht für einige Stunden bewegt werden, oder die Plattenoberfläche kann mit einem Spatel abgetragen werden. Durch Zentrifugation und Filtration (0.45 µm Filter) werden die neu gewonnenen Lysate bakterienfrei. Bei extremem Titerverlust kann durch eine Einzelplaque-Isolierung ein neues Lysat hergestellt werden: mit einer sterilen Pasteurpipette wird ein Plaque in wenigen Tropfen Puffer resuspendiert und eine Lyse im Kleinmaßstab durchgeführt.

Allgemeine Information zu Phagen: <http://www.cabri.org/guidelines/phages/phcover.html>

Häufig verwendetes Medium und häufig verwendeter Phagenpuffer:

General Growth Medium

Difco Nutrient Broth	8 g
NaCl	0.8 g
Difco Bacto Agar	15 g
Distilled Water to	1.0 L

Phage Buffer

Na ₂ HPO ₄ anhydrous	7 g
KH ₂ PO ₄ anhydrous	3 g
NaCl	5 g
0.1 M MgSO ₄	10 mL
0.1 M CaCl ₂	10 mL
H ₂ O to	1.0 L

Kontakt:

Dr. **Christine Rohde**

DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
Inhoffenstr. 7b, 38124 Braunschweig, Germany

Fon: + 49-531-2616-220, Fax: +49-531-2616-418, chr@dsmz.de, <http://www.dsmz.de>

DSMZ, April 2008