

TY 琼脂培养基

产品简介:

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 发根农杆菌含有 pRi2659 农杆菌型 Ri 质粒,具有广泛的宿主范围(葫芦科、豆科等),同时具有链霉素抗性。发根农杆菌可以使用常规的 TY 培养基进行培养。

Leagene TY 琼脂培养基又称 TY 固体培养基,主要由胰蛋白胍(Tryptone)和酵母提取物(Yeast extract)、氯化钙、琼脂粉等组成,一般 pH 值约为 7.0,经 15psi 高压灭菌 20min。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	Storage
	CM0147	
TY 琼脂培养基	500ml	4°C
使用说明书	1 份	

操作步骤(仅供参考):

1、倒平板:将 TY 琼脂培养基充分加热溶解混匀,倒平板备用。

2、发根农杆菌甘油菌培养:

①取出甘油菌置于冰上,并置于超净台内,后续操作都在超净台内操作。

②用镊子或塑料枪头操作:把镊子的顶端在 70%酒精中蘸一下,并且在酒精灯上略略烧一下,使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的塑料枪头,蘸取甘油菌,然后把蘸有菌液的塑料枪头,以尽量和 TY 平板接近平行的角度,在含 50µg/ml 链霉素的 TY 平板上连续作 S 形或 Z 形划动,再用一无菌的 200µl 塑料枪头,在原先的划线上以 90°或 120°角,再在 TY 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。通常换枪头重复操作 2~3 次即可。28~30°,倒置培养 2~3 天。

③用接种环操作:将接种环在酒精灯上略略烧一下,使接种环处于无菌状态。微冷后,蘸取少量甘油菌,在含 50µg/ml 链霉素的 TY 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。把接种环再烧一下,微冷后,在原先的划线上以 90°或 120°角,再在 TY 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。通常用接种环重复操作 2~3 次即可。28~30°,倒置培养 2~3 天。

3、农杆菌感受态细胞的培养:

①取-70°C 保存的农杆菌感受态于室温或冰水浴片刻待其部分融化,处于冰水混合状态时

插入冰浴中。

②每 100 μ l 感受态加 1 μ g 质粒 DNA，用手拨打管底混匀，依次于冰上静置 5 分钟、液氮 5 分钟、37 $^{\circ}$ C 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。

③加入 800 μ l TY 液体培养基，于 28 $^{\circ}$ C 振荡培养 2~3 小时。

④5000rpm 离心 1min 收菌，留取 100 μ l 左右上清，轻轻吹打重悬菌块，涂布于含相应抗生素的 TY 平板上，倒置放于 28 $^{\circ}$ C 培养箱培养 2~3 天。

注意事项：

- 1、注意无菌操作，尽量避免污染。
- 2、刚刚化冻的细胞，转化效率最高。
- 3、感受态细胞应保存在-70 $^{\circ}$ C，应避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 4、混匀质粒时应用手指快速拨打管底或用枪吹吸混匀，务必使质粒快速、均匀分散开，与感受态细胞充分接触。转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。平板上阳性克隆密度过大时，由于营养不足，阳性克隆生长变慢，菌落变小，为了获得大的菌落，应减少质粒用量或降低涂板的菌量。
- 5、K599 具有链霉素抗性，不可用于具有链霉素抗性质粒的转化。
- 6、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效。低温运输，4 $^{\circ}$ C 保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
CA0050	硫酸链霉素溶液(Streptomycin,10mg/ml)
CA0055	硫酸庆大霉素溶液(Gentamycin Sulfate,50mg/ml)
CM0004	LB 培养基
CM0515	MS 无机大量元素母液(20 \times)
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
NR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
NV0011	即用型细菌冻存液
PE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)