

## TY 培养基(粉剂)

### 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。

TY 培养基(粉剂)主要由胰蛋白胨(Tryptone)和酵母提取物(Yeast extract)、氯化钙等组成，不含琼脂粉，溶于水后 pH 值一般约为 7.0，使用前需经 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	ADS153M0	ADS153M1	Storage
TY 培养基(粉剂)	1L	250g	RT
使用说明书	1 份		

### 操作步骤(仅供参考)

#### 1、配制 TY 培养基：

①称取 TY 培养基(粉剂)9.11 g，补水到 1L，完全溶解后，121°C 20min 高压灭菌。②如果需要 TY 琼脂培养基，可在第①步溶解 TY 培养基(粉剂)后加入 15g 琼脂粉，加热溶解后再高压灭菌处理。

#### 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。  
③用镊子夹取一个无菌的塑料枪头或牙签，蘸取甘油菌，然后把蘸有菌液的塑料枪头或牙签放到含有 50μg/ml 链霉素的 TY 液体培养基的试管内或细菌培养瓶内，28~30°C，约 200rpm 培养至少 24h。

#### 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 100μl 感受态加 1μg 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°C 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。

③加入 800μl TY 液体培养基，于 28°C 振荡培养 2~3 小时。

④5000rpm 离心 1min 收菌，留取 100μl 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°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°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：**24 个月。