

## 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。

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	ADS154M0	Storage
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 $\mu$ l 感受态加 1 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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。低温运输，4 $^{\circ}$ C 保存。