

## TY 琼脂培养基(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 琼脂培养基(粉剂)主要由胰蛋白胍(Tryptone)、酵母提取物(Yeast extract)、氯化钙和琼脂粉等组成，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		
	ADS155M0	ADS155M1	Storage
TY 琼脂培养基(粉剂)	1L	250g	RT
使用说明书	1 份		

### 操作步骤(仅供参考)

#### 1、配制 TY 琼脂培养基:

称取 TY 琼脂培养基(粉剂)17 g/L，补水到 1L，除琼脂粉外其他成分溶解后调整 pH 至 7.0 左右，再加热至完全溶解，121°C 20min 高压灭菌。

#### 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、本产品所用琼脂粉凝胶强度较高，因此加入的琼脂粉的浓度部位 15g/L。本品 250g 规格可配制 14.8L 左右。
- 4、感受态细胞应保存在-70℃，应避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 5、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。
- 6、K599 具有链霉素抗性，不可用于具有链霉素抗性质粒的转化。
- 7、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 8、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。