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 农杆碱型 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，主要由胰蛋白胨 (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:

编号 / 名称	GCCM0147	Storage
TY 琼脂培养基	500ml	4℃
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 90º 或 120º 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。28~30º ，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 90º 或 120º 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。 28~30º ，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 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： 6 个月有效。低温运输， 4°C 保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCA0050	硫酸链霉素溶液 (Streptomycin,10mg/ml)
GCCA0055	硫酸庆大霉素溶液 (Gentamycin Sulfate,50mg/ml)
GCCM0004	LB 培养基
GCCM0515	MS 无机大量元素母液 (20×)
GCDH0006	苏木素伊红 (HE) 染色液 (醇溶)
GCNR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
GCNV0011	即用型细菌冻存液
GCPE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
GCTC1167	尿素 (Urea) 检测试剂盒 (脲酶波氏比色法)