



K599 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC406)

K599 :	100μl/支
pCAMBIA2301M (control vector , 10ng/μl) :	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (12 个月)

产品介绍

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 (NCPPB2659) 含有 pRi2659 农杆菌型 Ri 质粒, 具有广泛的宿主范围 (葫芦科, 豆科, 茄科等), 同时具有链霉素抗性。本公司生产的 K599 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pCAMBIA2301 质粒 (卡那霉素抗性) 检测, 转化效率 $>10^3$ cfu/μg DNA。

基因型 : Agrobacterium rhizogenes (str^R) pRi2659 (agropine type)

操作方法

1. 取-80°C保存的农杆菌感受态于室温或手心片刻待其部分融化, 处于冰水混合状态时插入冰中。
2. 每 100 μl 感受态加入 1 -5ug 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 700 μl 无抗生素的 TY 液体培养基, 于 28°C振荡培养 2~3 小时。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μl 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. 加入质粒时体积不应大于感受态体积的 1/10, 混入质粒时应轻柔操作。
2. 感受态细胞应保存在-80°C, 应避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
3. 经验显示: 农杆菌转化效率本身比较低, 加入 1ug 质粒, 离心全涂约有 1000 个克隆, 为了转化成功, 建议每次加入最大体积转化感受态。即 10ul 质粒转化 100ul 感受态细胞。
4. K599 具有链霉素抗性, 不可用于具有链霉素抗性质粒的转化, **K599 不可使用 LB, YEB 等培养基培养, 建议用 TY 培养。**

TY 配方 (1L) :

Tryptone 5g
Yeast extract 3g

补水到 1L 体积, 完全溶解后, 121 度、20 分钟高温灭菌

配制 1M 的氯化钙水溶液, 121 度、20 分钟高温灭菌

每 1L 灭菌的 TY 液体营养液中加入 10ml 无菌的 1M 氯化钙水溶液即可。

若配制 TY 固体培养基, 则加入 15g 琼脂粉。