

K599(pSoup) 感受态说明书

产品规格 (PG1106)

K599(pSoup) :	100 μ l \times 10 支
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C (12 个月)

产品说明

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 (NCPB2659) 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。在 K599 菌株中转入 help 质粒: pSoup 即为 K599(pSoup)菌株, 可帮助 pGreen, 62SK, pGs2 系列质粒在农杆菌中复制, 同时赋予该菌株四环素(tet)抗性。

K599(pSoup)感受态细胞经特殊工艺制作, pGs2 质粒(4445bp, Kan^R)检测转化效率 $>10^4$ cfu/ μ g DNA。

操作方法

1. 取-80℃保存的 K599(pSoup) 农杆菌感受态于冰上融化，每 100μl 感受态加入 0.01-1μg 质粒 DNA，轻弹混匀，冰浴 15min。
2. 将上述混合物转移至液氮中急冻 5min，再 37℃热击 5min，迅速转移至冰上 2min。
3. 加入 800μl 无抗生素的 TY 液体培养基，28℃，220rpm 振荡培养 2h。
4. 6000rpm 离心一分钟收菌，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，28℃倒置培养 2d。
(当平板只含有 50μg/ml kan 时，28℃培养 48h 即可；平板中同时加入 kan 和 strep 时，可适当减少 strep 的用量以提高转化效率，建议加入 12 - 25μg/ml 的 strep 即可)。

注意事项

1. 加入质粒的体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 混入质粒时应轻柔操作。
3. 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。
4. K599(pSoup) 具有链霉素，四环素抗性，不可用于具有链霉素、四环素抗性质粒的转化。