



# K599(pSoup) 感受态细胞

## K599(pSoup) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1510

| 目录编号       | 产品名称              | 包装单位                    |
|------------|-------------------|-------------------------|
| ■ ZC1510-1 | K599(pSoup) 感受态细胞 | 100 $\mu$ l $\times$ 10 |

备注: 以上包装均含有 pGs2(10ng/ $\mu$ l) 5 $\mu$ l (质量控制用, 请转化提取后使用)。

储存: -70 $^{\circ}$ C 保存六个月。

### 产品介绍:

本公司生产的 K599(pSoup) 发根农杆菌化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pGs2 质粒检测转化效率高达  $10^4$ cfu/ $\mu$ g DNA。

基因型为: *Agrobacterium rhizogenes* (str<sup>R</sup>) pRi2659 (agropine type)(pSoup-tet<sup>R</sup>)

### 产品特点:

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 (NCPBP2659) 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。

### 操作步骤: (冻融法)

以下步骤均按无菌条件的标准进行:

- 1、取 -70 $^{\circ}$ 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。
- 4、5000rpm 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。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。
- 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。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 加入质粒时体积不应大于感受态体积的 1/10; 质粒不纯或存在乙醇等有机物污染, 转化效率急剧下降; 质粒增大一倍, 转化效率下降一个数量级。
- 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。

- 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。
- 转化壮观霉素抗性质粒, 推荐壮观霉素使用浓度为 100-150 $\mu$ g/ml。

### 培养基配方：

TY 配方 (1L)：

Tryptone                      5 g

Yeast extract                3 g

补水到 1L 体积, 完全溶解后, 121°C、20min 高温灭菌

配制 1M 的氯化钙水溶液, 121°C、20min 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。