



K599 电转感受态细胞

K599 Electroporation Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1506D

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1506D	K599 电转感受态细胞	10×50μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pCAMBIA2301M(10ng/μl)5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

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。K599 电转感受态特别适用于大质粒的转化, 感受态细胞经特殊工艺制作, pCAMBIA2301M 质粒 (卡那霉素抗性) 检测, 转化效率 $>10^5$ cfu/μg DNA; 经 pCAMBIA2301-ZH 质粒 (size:40 kb) 检测转化效率可达 5×10^3 cfu/μg DNA。

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

操作方法:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min, 待其沥干水分, 正置 5min, 使乙醇充分挥发, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -80°C 保存的农杆菌感受态插入冰中 5min, 待其融化, 加入 0.01-1μg 质粒 DNA (体积不大于 6μl, 最好用试剂盒抽提, 双蒸水溶解; 转化效率较高, 第一次使用前最好做预实验确定所加质粒的量), 用手拨打管底混匀, 立即插入冰中, 用 200μl 枪头将感受态 - 质粒混合物快速移到电击杯中, 盖上杯盖, 空管保留待用。

3. 启动电转仪, 设置参数: C=25μF, PC=200Ω, V=2400V (此参数为 Biorad 推荐, 使用者也可按所用电转仪推荐的 protocol 操作), 将电击杯从冰中拿出, 吸水纸吸干外表面水份, 快速放入电转槽中, 启动电击, 电击完成快速插入冰中, 加入 1ml 无抗生素的 TY, 并转移到感受态空管中, 28°C 振荡培养 2~3h。

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, 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; 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。
2. 电转感受态细胞中不可混入气泡, 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
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, 应减少质粒用量或最终用于涂板的菌量。
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。



ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、 临床治疗、 食品及化妆品等用途。

培养基配方：

YMB 配方(1L)：

Yeast extract	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
NaCl	0.1 g
甘露醇	10 g

补水到 1L 体积, 完全溶解后, 调 PH 值到 7.0, 121°C、20min 高温灭菌

若配制 YMB 固体培养基, 则加入 15g 琼脂粉。

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。

ZOMANBIO