

农杆菌 YEP 培养基

使用说明书

储存条件： 常温保存，3 年有效。

产品说明：

YEP 培养基（Yeast Extract Peptone Broth Medium）常用于农杆菌的增菌培养。酵母浸粉和蛋白胨提供碳氮源、维生素和生长因子；氯化钠可维持均衡的渗透压。

成分组成：(g/L)

成分组成	PM0890	PM0891
酵母浸粉	10	10
蛋白胨	10	10
氯化钠	5	5
琼脂	-	15

配制方法(仅供参考)：

1. 称取适量培养基，加蒸馏水至 1 L，搅拌均匀，调 pH 值至 7.0 ± 0.2 。
2. $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高温灭菌 15 min 或 $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高温灭菌 20 min。
3. 固体培养基冷却到 $50\text{-}60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，加入抗生素，倾倒入皿， $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用。

农杆菌感受态制备(仅供参考):

1. 活化: 将农杆菌菌种 (-80 °C) 室温解冻, 划线至 YEP 平板上 (50 mg/L Rif) 28 °C 过夜活化。
2. 小摇: 挑取单克隆接种于 5 mL 液体 YEP 培养基, 28 °C, 200 rpm 培养过夜。
3. 大摇: 取 2 mL 过夜菌液接种于 50 mL 液体 YEP 培养基中, 28 °C 生长至 OD₆₀₀ 约等于 0.5 左右。
4. 离心: 采用 1.5 mL 离心管, 4 °C, 4500 rpm 离心 10 min, 弃上清, 收集菌体。
5. 取现配的 0.1 mol/L 的 CaCl₂ 溶液 400 μL 溶解上述菌块, 冰上静置 30 min;
6. 再次离心, 用 100 μL 的 CaCl₂ 溶液溶解上述菌块, 即为农杆菌感受态。

注意事项:

1. 注意无菌操作, 避免微生物污染。
2. 根据菌株生长特性, 可适当调整 pH 值。
3. 该培养基仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其它用途。
4. 称量时注意粉尘, 佩戴口罩操作以避免引起呼吸道系统不适。

5. 干粉培养基使用后应立即旋紧瓶盖，避免吸潮结块。未开封产品保质期三年，开封后根据存放条件的不同保质时间存在一定的差异。