

MSU440 Chemically Competent Cell 产品说明书

- 产品规格 (CAT# : AC1070)

| | |
|--------------------------------------|--------------|
| MSU440 Competent Cell | 100μl/支 |
| pCAMBIA2301(control vector, 10ng/μl) | 10μl |
| 保存条件 (保质期): | -80°C (12个月) |

- 基因型

Agrobacterium rhizogenes(str^R) MSU440 Ri (agropine type)

- 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。MSU440发根农杆菌菌株含有农杆菌型 Ri 质粒,具有广泛的宿主范围(玉米,烟草,茶树,青蒿等),同时具有链霉素抗性。本公司生产的MSU440化学转化感受态细胞经特殊工艺制作,pCAMBIA2301质粒(12739bp, Kan^R)检测转化效率>10⁴ cfu/μg DNA。

- 常规操作方法

- 1.取-80°C保存的Ar MSU440发根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100μl感受态加入0.01-1μg质粒DNA(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),用手快速、剧烈拨打管底混匀或用枪吹吸混匀,依次放于冰中静置5分钟、液氮5分钟、37°C水浴5分钟、冰浴5分钟。
- 3.冰浴中拿出放室温,加入700μl无抗生素的TY液体培养基,于28°C振荡培养2小时。
- 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

● 农杆菌相关抗生素配方：

| 抗生素 | 配方 | 原液 | 工作液 |
|------------------------------|-------------------------|-----------|----------|
| 羧苄青霉素(carb)(唯地 CAT#: YC9040) | 双蒸水溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 100 mg/ml | 50 μg/ml |
| 硫酸卡那霉素(kan)(唯地 CAT#YC9020) | 双蒸水溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 100 mg/ml | 50 μg/ml |
| 壮观霉素(spec)(唯地 CAT#: YC9070) | 双蒸水溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 100 mg/ml | 75 μg/ml |
| 链霉素(strep)(唯地 CAT#: YC9060) | 双蒸水溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 100 mg/ml | 50 μg/ml |
| 利福平(rif)(唯地 CAT#: YC9080) | DMSO 溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 60 mg/ml | 20 μg/ml |
| 庆大霉素(gent)(唯地 CAT#: YC9090) | 双蒸水溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 100 mg/ml | 40 μg/ml |
| 氯霉素 (cam) (唯地 CAT#: YC9030) | 无水乙醇溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 100 mg/ml | 68 ug/ml |

● 常用农杆菌抗性：(R：抗；S：敏感。)

| 农杆菌菌株 | 羧苄青霉素(carb) | 链霉素(strep) | 利福平(rif) | 氯霉素(cam) | 硫酸卡那霉素(kan) |
|-----------|-------------|------------|----------|----------|-------------|
| Ar.A4 | S | S | S | S | R |
| MSU440 | S | R | S | S | S |
| Ar.Qual | S | R | S | R | S |
| C58C1 | S | R | R | S | S |
| ATCC15834 | S | S | S | S | S |
| K599 | S | R | S | S | S |
| Ar.1193 | R | R | R | S | S |

● TY 配方 (1L) (唯地 CAT#: CM2210)：

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。

● 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. 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。
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，应减少质粒用量或降低涂板的菌量。
4. MSU440 具有链霉素抗性，不可用于具有链霉素抗性质粒的转化。