

大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: RhC1021)

大豆根瘤菌 <i>Bradyrhizobium japonicum</i> USDA 110 Competent Cell	100μl /支
pBBR1MCS-2 (control vector, 10ng/μl)	10μl
保存条件 (保质期) :	-80℃ (12个月)

● 产品说明

大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110, 原学名: *Bradyrhizobium japonicum*, 现修订正式学名为: *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110, 属慢生大豆根瘤菌, 培养 5-7 天, 适配酸性土壤, 国际标准模式菌株。菌株编号 USDA 代表美国农业部 (United States Department of Agriculture), 是美国农业部根瘤菌资源库经典标准菌株, 20 世纪中期从美国本土大豆种植田的大豆新鲜根瘤组织中分离纯化得到。天然宿主为栽培大豆 (*Glycine max*), 仅能高效与大豆结瘤固氮; 原始菌株分离自北美中性偏酸农田土壤, 全球温带酸性、微酸性大豆产区广泛适配, 在高盐 / 高碱环境下生长、结瘤能力显著下降。生长特征: 属于典型的慢生型根瘤菌, YMA 培养基 28℃ 培养 5-7 天长出单菌落, 区别于快生根瘤菌 2-3 天的生长周期。大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110 主要用于固氮研究和根际微生物与植物的互作研究。唯地生产的大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pBBR1MCS-2 质粒 (5148bp, Kan^R) 检测转化效率 > 3×10^3 cfu/μg DNA。

● 常规操作方法

1. 取 -80℃ 保存的根瘤菌感受态插入冰中。
2. 感受态融化后, 每 100 μl 感受态加入 0.1-5 μg 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℃ 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
3. 加入 1 mL 无抗生素的 YMB 液体培养基, 于 28℃ 振荡培养 3~4 小时。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 50 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块涂布于含相应抗生素的 YMA 平板上, 倒置放于 28℃ 培养箱培养 5-7 天。

(当平板只含有 30 μg/ml kan 时, 28℃ 培养 5-6 天可看到小菌落; 培养 6-9 天收平板可放 4 度保存 2-3 周。根瘤菌涂板一般用 YMA 培养基(唯地货号: RHM1012S); 根瘤菌液体培养基一般用 YMB 培养基(唯地货号: RHM1012L); 转化卡那抗性的质粒用硫酸卡那霉素(唯地货号: YC9020L) 的浓度一般为 30ug/ml。

● 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; 混入质粒时应轻柔操作, 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
2. 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。
3. 硫酸卡那霉素浓度不应高于 30 μg/ml, 过高的抗生素浓度不利于根瘤菌生长, 会降低其生长速度和转化效率。本公司大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110 感受态计算转化效率时所用平板只含有 30 μg/ml kan, 不同复制子质粒或不同筛选抗性质粒转化根瘤菌后的平板中的抗生素浓度需要实验者做梯度试验确定。