



MSU440 Chemically Competent Cell

产品货号：NGC801

产品规格：100 μ l/支

基因型：*Agrobacterium rhizogenes*(*str^R*) MSU440 Ri (*agropine* type)

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。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。MSU440 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pCambia2301 质粒（卡那霉素抗性）检测，转化效率 $>10^4$ cfu/ μ g DNA。

操作方法：

- 1.取-80℃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 100 μ l 感受态加入 0.01-1 μ g 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℃水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
- 3.冰浴中拿出放室温，加入 700 μ l 无抗生素的 TY 液体培养基，于 28℃振荡培养 2 小时。
- 4.6000 rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μ 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℃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)	双蒸水溶解，0.22 μ m 滤膜过滤除菌	50 mg/ml	50 μ g/ml
硫酸卡那霉素 (kan)	双蒸水溶解，0.22 μ m 滤膜过滤除菌	50 mg/ml	50 μ g/ml
链霉素 (strep)	双蒸水溶解，0.22 μ m 滤膜过滤除菌	10 mg/ml	50 μ g/ml
利福平 (rif)	DMSO 溶解，0.22 μ m 滤膜过滤除菌	10 mg/ml	20 μ g/ml
庆大霉素 (gent)	双蒸水溶解，0.22 μ m 滤膜过滤除菌	20 mg/ml	40 μ g/ml
氯霉素 (cam)	无水乙醇溶解，0.22 μ m 滤膜过滤除菌	34 mg/ml	34 μ g/ml



常用农杆菌抗性：(R：抗；S：敏感)

农杆菌菌株	羧苄青霉 (carb)	链霉素 (strep)	利福平 (rif)	庆大霉素 (gent)	硫酸卡那霉素 (kan)
AGL-1	R	S	R	S	S
EHA101	S	S	R	S	R
EHA105	S	S	R	S	S
LBA4404	S	R	R	S	S
GV3101	S	S	R	R	S

LB 及 YEB 配方：

component	LB(液体)/L	LB(固体)/L	component	YEB(液体)/L	YEB(固体)/L
Tryptone	10 g	10 g	Tryptone	5 g	5 g
Yeast extract	5 g	5 g	Yeast extract	1 g	1 g
NaCl	10 g	10 g	牛肉浸膏	5 g	5 g
NaOH	调 PH 到 7.0	调 PH 到 7.0	蔗糖	5 g	5 g
Agar	-	15 g	MgSO ₄ *7H ₂ O	0.49 g	0.49 g
			NaOH	调 PH 到 7.0	调 PH 到 7.0
			Agar	-	15 g

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。
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。
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。

保存条件：

-80℃保存 6 个月。