MSU440 感受态细胞

MSU440 Chemically Competent Cell

保存条件： -80℃

产品规格:

MSU440	10×100μl
pCAMBIA2301（controlvector）	10pg/μl 10μl

基 因 型

Agrobacterium rhizogenes(strR) MSU440 Ri (agropine type)

简 要 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碱型 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（卡那霉素抗性）检测，转化效率>10^4 cfu/μg DNA。

操 作 说 明

1.取-80℃保存的 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 0.01-1 μg 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 700μl 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 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℃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. 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。

1、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 μm 滤膜过滤除菌	50 mg/ml	50 μg/ml
硫酸卡那霉素（kan）	双蒸水溶解，0.22 μm 滤膜过滤除菌	50 mg/ml	50 μg/ml
链霉素（strep）	双蒸水溶解，0.22 μm 滤膜过滤除菌	10 mg/ml	50 μg/ml
利福平（rif）	DMSO 溶解，0.22 μm 滤膜过滤除菌	10 mg/ml	20 μg/ml
庆大霉素（gent）	双蒸水溶解，0.22 μm 滤膜过滤除菌	20 mg/ml	40 μg/ml

2、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)	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

3、TY 配方（1L）：

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。