

## Ar A4 感受态细胞

### Ar.A4 Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2069

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl 100×100μl

产品介绍

基 因 型

**Agrobacterium rhizogenes(kanR ) Ar A4 Ri(agropine type)**

简 要 说 明

MLBio 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。Ar.A4 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，胡萝卜，甘草等），同时具有卡那霉素抗性。MLBio 生产的 Ar.A4 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pK7WGF2 质粒（壮观霉素抗性）检测，转化效率 $>10^4$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## 操作说明

1. 取 $-80^{\circ}\text{C}$ 保存的 Ar A4 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  $\mu$ l 感受态加入 0.01-1  $\mu$ 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、 $37^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
3. 冰浴中拿出放室温，加入 700  $\mu$ l 无抗生素的 TY 液体培养基，于  $28^{\circ}\text{C}$ 振荡培养 2 小时。
4.  $6000$  rpm 离心一分钟收菌，留取 100  $\mu$ 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  $28^{\circ}\text{C}$ 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.Ar.A4 具有卡那霉素抗性，不可用于具有卡那霉素抗性质粒的转化。

## 备 注

### 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 $\mu$ m 滤膜过滤除菌	50 mg/ml	50 $\mu$ g/ml
硫酸卡那霉素 (kan)	双蒸水溶解，0.22 $\mu$ m 滤膜过滤除菌	50 mg/ml	50 $\mu$ g/ml
链霉素 (strep)	双蒸水溶解，0.22 $\mu$ m 滤膜过滤除菌	10 mg/ml	50 $\mu$ g/ml
利福平 (rif)	DMSO 溶解，0.22 $\mu$ m 滤膜过滤除菌	10 mg/ml	20 $\mu$ g/ml
庆大霉素 (gent)	双蒸水溶解，0.22 $\mu$ m 滤膜过滤除菌	20 mg/ml	40 $\mu$ g/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。

