

Ar.Qual Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT# : AC1060)

| | |
|--------------------------------------|--------------|
| Ar.Qual 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, Cam^R) Ar Qual 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。Ar.Qual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,番茄,柑橘等),同时具有链霉素,氯霉素抗性。本公司生产的 Ar.Qual 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>10⁴ cfu/μg DNA。

● 常规操作方法

- 1.取-80°C保存的 Ar.qual 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 μl 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°C 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
3. 冰浴中拿出放室温,加入 700 μl 无抗生素的 TY 液体培养基,于 28°C 振荡培养 2 小时。
4. 6000 rpm 离心一分钟收菌,留取 100 μl 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) | 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 |
| 氯霉素 (cam) | 无水乙醇溶解, 0.22 μm 滤膜过滤除菌 | 34 mg/ml | 34 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)：

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. Ar.Qual 具有链霉素、氯霉素抗性，不可用于具有链霉素抗性或氯霉素抗性质粒的转化。