K599 Chemically Competent Cell 使用说明书

储存条件：-80 ℃（12 个月）

产品规格：100 μL/支

基因型：Agrobacterium rhizogenes (strR) pRi2659 (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。K599 发根农杆菌（NCPPB2659）含有 pRi2659 农杆碱型 Ri 质粒，具有广泛的宿主范围（葫芦科，豆科，茄科等），同时具有链霉素抗性。

使用方法：

1. 取-80℃保存的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），用手快速拨打管底混匀，依次于冰上静置 5 min、液氮 5 min、37℃水浴 5 min、冰浴 5 min。

3. 加入 700 μL 无抗生素的 TY 液体培养基，于 28℃振荡培养 2~3 h。

4. 6000 rpm 离心 1 min 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℃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。