

## Ar.A4 感受态说明书

### 产品规格（PG1083）

Ar.A4:	100 $\mu$ l $\times$ 10 支
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C（12 个月）

### 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.A4 发根农杆菌菌株含有农杆菌碱型 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。本公司生产的 Ar.A4 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pK7WGF2 质粒检测转化效率 $>10^4$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## 操作方法

1. 取-80℃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 15min、液氮 5min、37℃水浴 5min、冰浴 5min。
3. 冰浴中拿出放室温，加入 800 $\mu$ l 无抗生素的 TY 液体培养基，于 28℃振荡培养 2h。
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℃培养箱培养 2-3d。

## 注意事项

1. 质粒体积不应大于感受态体积的 1/10，混入质粒时应轻柔操作。
2. 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。
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. Ar.A4 具有卡那霉素抗性，不可用于有卡那霉素抗性质粒的转化。