

AGL1 化学感受态

■ 产品简介

AGL1 菌株为 C58, RecA 型背景, 核基因中含有筛选标签——利福平抗性基因 Rif 和羧苄青霉素抗性基因 Carb, 为了便于转化操作, 此菌株携带一无自身转运功能的琥珀碱型 Ti 质粒 pTiBo542DT-DNA, 此质粒含有 vir 基因(vir 基因是 T-DNA 插入植物基因组必需的元件, pTiBo542DT-DNA 质粒自身的 T-DNA 转移功能被破坏, 但可以帮助转入的双元载体 T-DNA 顺利转移)。pTiBo542DT-DNA 型 Ti 质粒含有筛选标签: Strep, 赋予 AGL1 菌株链霉素抗性, 适用于水稻、拟南芥、杨树等植物的转基因操作, 经 pCAMBIA2301 质粒检测转化效率 $\geq 5 \times 10^3$ cfu/ μg DNA。

■ 产品组成

组分	KW-96307
AGL1 化学感受态	10 × 100 μL

基因型: C58 RecA (Rif^R/Carb^R) Ti pTiBo542DT-DNA Succinamopine

■ 存储条件

-80°C保存; 请勿将本品置于-20°C或者液氮中保存!

■ 使用方法

1. 将感受态细胞从-80°C中取出, 在手心或室温片刻使其部分融化, 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 待转化的质粒 DNA(加入质粒 DNA 体积不超过 10 μL), 用手轻轻拨打管底混匀, 依次于冰上静置 10 min、液氮 5min (或-70°C干冰乙醇浴 5 min)、37°C水浴 5 min、冰浴 5 min;
3. 加入 900 μL 无抗生素的 YEB 液体培养基, 于 28°C振荡培养 2~3 小时。
4. 6000 rpm, 1 min 离心收菌, 留底部 100 μL 左右菌液轻轻吹打重悬菌块, 涂布于含相应抗生素的 YEB 平板上, 倒置放于 28°C培养箱培养 2~3 天(当平板只含有 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Kan 时, 28°C培养 48h 即可; 平板中同时加入 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Kan, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Rif 时, 需 28°C培养 60 h; 如果使用的平板含有 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Rif 时, 则需要 28°C培养 72~90 h)。

■ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 禁止反复冻融;
2. 加入的待转化 DNA 的总体积不应超过感受态细胞体积的 1/10;
3. 建议利福平浓度不高于 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 过高浓度的利福平会降低农杆菌的生长速度和转化效率;
4. 由于 Ti 质粒丢失的概率极低(可以忽略), 所以一般培养农杆菌时不考虑添加相应抗生素。