

Ar. 1193 化学感受态

■ 产品简介

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. 1193 发根农杆菌含有 pRi1193 农杆菌型 Ri 质粒，特别适合豆科，茄科植物毛状根的诱导，同时具有羧苄青霉素，链霉素，利福平抗性。本公司生产的 Ar. 1193 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pCAMBIA2301 质粒(Kan^R)检测，转化效率 $\geq 10^4$ cfu/ μ g DNA。

■ 产品组成

组分	KW-96310
Ar. 1193 化学感受态	10 \times 100 μ L

基因型: *Agrobacterium rhizogenes* (Carb^R, Str^R, Rif^R) pRi1193 (agropine type)

■ 存储条件

-80 $^{\circ}$ C 保存; 请勿将本品置于 -20 $^{\circ}$ C 或者液氮中保存!

■ 使用方法

1. 将感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ 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 μ L 感受态加入 0.01-1 μ g 待转化的质粒 DNA(加入质粒 DNA 体积不超过 10 μ L)，用手轻轻拨打管底混匀，依次于冰上静置 10 min、液氮 5min (或 -70 $^{\circ}$ C 干冰乙醇浴 5 min)、37 $^{\circ}$ C 水浴 5 min、冰浴 5 min；
3. 加入 900 μ L 无抗生素的 YEB 液体培养基，于 28 $^{\circ}$ C 振荡培养 2~3 小时。
4. 6000 rpm，1 min 离心收菌，留底部 100 μ L 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 $^{\circ}$ C 培养箱培养 2~3 天(当平板只含有 50 μ g/mL Kan 时，28 $^{\circ}$ C 培养 48 h 即可；平板中同时加入 50 μ g/mL Kan，20 μ g/mL Rif 时，需 28 $^{\circ}$ C 培养 60 h；如果使用的平板含有 50 μ g/mL Rif 时，则需要 28 $^{\circ}$ 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 μ g/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。