

# C58C1 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。C58C1 发根农杆菌菌株含有 pRiA4b 农杆菌型 Ri 质粒，具有广泛的宿主范围(蔷薇科，夹竹桃科，豆科，茄科，黄芩，烟草等)，同时具有链霉素，利福平抗性。本公司生产的 C58C1 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pCAMBIA2301 质粒(Kan<sup>R</sup>)检测，转化效率 $\geq 10^4$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## ■ 产品组成

组分	KW-96313
C58C1 化学感受态	10 $\times$ 100 $\mu$ L

基因型: *Agrobacterium rhizogenes* (Str<sup>R</sup>,Rif<sup>R</sup>) pRiA4b (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  $\mu$ L 感受态加入 0.01-1  $\mu$ g 待转化的质粒 DNA(加入质粒 DNA 体积不超过 10  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ g/mL Kan 时，28 $^{\circ}$ C培养 48 h 即可；平板中同时加入 50  $\mu$ g/mL Kan，20  $\mu$ g/mL Rif 时，需 28 $^{\circ}$ C培养 60 h；如果使用的平板含有 50  $\mu$ 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  $\mu$ 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。