

AGL1 感受态细胞

● 产品规格

AGL1 感受态细胞 100 μ l*10

● 储存条件

-80°C(12 个月)

● 基因型

C58 RecA (rif^R/carb^R) Ti pTiBo542DT-DNAsuccinamopine(pSoup-tet^R)

● 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 质粒检测转化效率可达 5×10^3 cfu/ μ g。

● 使用说明

- 1). 取 -80°C 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 μ l 感受态加入 0.01-1 μ 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), 用手拨打管底混匀, 依次于冰上静置 5 分钟、液氮 5 分钟、37°C 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
- 3). 加入 700 μ l 无抗生素的 LB 或 YEB 液体培养基, 于 28°C 振荡培养 2~3 小时。
- 4). 6000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块涂布于含相应抗生素的 LB 或 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 μ g/ml kan 时, 28°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°C 培养 60 h; 如果使用的平板含有 50 μ g/ml rif 则需要 28°C 培养 72-90 h)。

● 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). 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。
- 4). 利福平浓度不应高于 25 μ g/ml, 过高的利福平浓度不利于农杆菌生长, 会降低其生长速度和转化效率。本公司感受态计算转化效率时所用平板只含有 50 μ g/ml kan, 若所用平板含有 20 μ g/ml rif 则转化效率降低到 1/2。

5). 培养基中加入利福平的目的是防止杂菌生长、筛选农杆菌；根据所用菌株抗性加入链霉素或庆大霉素可防止 Ti 质粒丢失，但链霉素不利于农杆菌的转基因操作，所以一般培养农杆菌时不考虑链霉素或庆大霉素，Ti 质粒丢失的概率极低。

***本试剂仅供实验室研究使用**