

AGL1(pSoup)感受态细胞

产品规格

AGL1(pSoup) 感受态细胞 100μl*10

储存条件

-80°C(12 个月)

基因型

C58 RecA (rifR/carbR) Ti pTiBo542DT-DNAsuccinamopine(pSoup-tetR)

产品简介

AGL1(pSoup)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 TDNA 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)。在 AGL1 菌株中转入 help 质粒: pSoup 即为 AGL1(pSoup)菌株, 可帮助 pGreen, 62SK, pGs2 系列质粒在农杆菌中复制, 同时赋予该菌株四环素 (tet) 抗性。适用于拟南芥、烟草、玉米、土豆等植物的转基因操作。AGL1(pSoup)化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pGs2(卡那霉素抗性)质粒检测转化效率 $>10^4$ cfu/μg DNA。

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 μl 感受态加入 0.01-1 μg 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 μl 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 μl 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 μg/ml kan 时, 28°C培养 48 h 即可; 平板中同时加入 50 μg/ml kan, 20μg/mlrif 时, 需 28°C培养 60 h; 如果使用的平板含有 50 μg/mlrif 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 $\mu\text{g/ml}$, 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 $\mu\text{g/ml}$ kan, 若所用平板含有 20 $\mu\text{g/ml}$ 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**