

AGL1(pSoup)化学感受态

■ 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 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)。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, pGs2(卡那霉素抗性)质粒检测转化效率 $\geq 10^4$ cfu/ μ g DNA。

■ 产品组成

组分	KW-96309
AGL1(pSoup)化学感受态	10 × 100 μ L

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

■ 存储条件

-80℃保存; 请勿将本品置于-20℃或者液氮中保存!

■ 使用方法

1. 将感受态细胞从-80℃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℃干冰乙醇浴 5 min)、37℃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℃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℃培养箱培养 2~3 天(当平板只含有 50 μ g/mL Kan 时, 28℃培养 48h 即可; 平板中同时加入 50 μ g/mL Kan, 20 μ g/mL Rif 时, 需 28℃培养 60 h; 如果使用的平板含有 50 μ g/mL Rif 时, 则需要 28℃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。