



MSU440 农杆菌化学感受态细胞

产品信息:

| 组成 | BC309-01 |
|------------------------|----------|
| MSU440 化学感受态细胞 | 10×100μl |
| pCAMBIA2301 (100ng/μl) | 10μl |

储存条件: -70℃保存, 避免反复冻融。

基因型: *Agrobacterium rhizogenes*(strR) MSU440 Ri (agropine type)

产品介绍:

MSU440 农杆菌为农杆菌型 Ri 质粒载体, 具有链霉素抗性 (strR), 属于革兰氏阴性土壤细菌。其宿主范围广泛, 可侵染大多数双子叶植物、部分单子叶植物及裸子植物。该类感受态细胞经专门优化, 具备高转化效率, 适用于玉米、烟草、茶树、青蒿等多种植物的遗传转化及转基因研究。本公司生产的 MSU440 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pCAMBIA2301 质粒 (卡那霉素抗性) 检测, 转化效率 $>10^4$ cfu/μg DNA。

转化方法 (采用冻融方法)

- 1.取-70℃保存的 MSU440 农杆菌感受态细胞于冰水浴中融化。
- 2.无菌条件下, 向感受态细胞中加入 100 ng-1μg 质粒 DNA (第一次使用, 可以进行预实验, 确定所加质粒的最佳量), 轻轻混匀, 冰水浴中静置 5 分钟。
- 3.将离心管置于液氮中速冻 5 分钟。也可以用干冰和无水乙醇的混合物代替液氮。
- 4.然后快速将离心管置于 37℃水浴中保持 5 分钟, 不要晃动水面。
- 5.将离心管放回冰水浴中, 冰水浴 5 分钟。
- 6.无菌条件下加入 800μl 无抗生素的 2xYT 或 LB 液体培养基, 于 28℃振荡培养 2~3 小时, 菌体复苏;
- 7.6000 rpm 离心 1 分钟收菌, 留 100 μl 左右上清, 轻轻吹打重悬菌体, 取适量菌液, 涂布于相应抗生素的 LB 平板上, 于 28℃培养箱中倒置培养 48-72 小时。

建议:

(1) 利福平 (Rif) 不利于农杆菌生长, 会降低其生长速度和转化效率, 筛选时仅可使用转化质粒抗性即可。例如对于 Kan 抗性质粒, 使用 Kan(50 μg/ml)平板, 28℃培养 48 小时即可; 对于 Amp 抗性质粒, 使用 Carb (50 μg/ml)平板, 28℃培养 48 小时即可。

(2) 摇菌时可加入 Rif, 工作浓度建议不超过 25μg/ml。

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.根据所用菌株抗性加入 Ri 型质粒筛选抗生素可防止 Ri 型质粒丢失, 但 Ri 型质粒筛选抗生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这些抗生素, Ri 型质粒丢失的概率极低(可以忽略)。