



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°C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>10⁴ cfu/μg DNA。

转化方法（采用冻融方法）

- 1.取-70°C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°C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°C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°C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，筛选时可仅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°C 培养 48 小时即可；对于 Amp 抗性质粒，使用 Carb (50 μg/ml) 平板，28°C 培养 48 小时即可。
- (2) 摆菌时可加入 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)。