本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

AGL1 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格（CAT#: YC304）

AGL1：	100μl/支
pCAMBIA2301M（control vector，10ng/μl）：	5μl
保存条件(保质期)：	-80℃（12 个月）

产品介绍

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元载体 T-DNA 顺利转移）。AGL1 菌株适用于水稻、拟南芥、杨树等植物的转基因操作。本公司生产的 AGL1 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作 pCAMBIA2301M 质粒检测转化效率>10^3 cfu/μg DNA。

基因型：C58 RecA (rif^R/$carb^R$) Ti pTiBo542DT-DNA Succinamopine

操作方法

1. 取-80℃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 1 -5ug 质粒 DNA，用手拨打管底混匀，依次于冰上静置 5 分钟、液氮 5 分钟、37℃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℃振荡培养 2~3 小时。
4. 5000 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℃培养箱培养 2-3 天

注意事项

1. 加入质粒时体积不应大于感受态体积的 1/10,混入质粒时应轻柔操作。
2. 感受态细胞应保存在-80℃，应避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
3· 为了避免假阳性出现，建议同时使用 50μg/ml Rif 与 50μg/ml Kan 进行抗性筛选；若载体为其他抗性时更换 Kan 为相应抗生素即可，本公司长期实验经验表明，50μg/ml Rif 能抑制所有大肠杆菌及一定程度上抑制其他杂菌，如霉菌，真菌等,
4. 经验显示：农杆菌转化效率本身比较低，加入 1ug 质粒，离心全涂约有 1000 个克隆，为了转化成功，建议每次加入最大体积转化感受态。即 10ul 质粒转化 100ul 感受态细胞。
5· 不适用于 Amp 抗性质粒。