

5196 感受态说明书

产品规格（PG1080）

5196:	100 μ l \times 10 支
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C（12 个月）

产品说明

5196 为发根农杆菌，具有广泛的宿主范围，本菌种来源于 5196，引进后视为第 0 代。用接种环接种至 3mlYEB 培养基中 28 $^{\circ}$ C 培养至 OD600=0.50，视为第工代，按照照 1:1 的体积比加入 50%甘油，按照每管 200ul 的量分装至 1.5mL 的 EP 管中，-80 $^{\circ}$ C 保存。本品为再培养分装。

5196 发根农杆菌 *Agrobacterium rhizogenes*2 代穿刺接种方式，固体培养基上生长，诱导毛状根，具有利福平抗性。

本公司生产的 5196 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 $>10^3$ cfu/ μ g DNA。

操作方法

1. 取-80℃保存的农杆菌感受态于冰上融化，每 100 μ l 感受态加入 1-5 μ l(<300 μ g)质粒 DNA，轻弹混匀，冰浴 15min。
2. 将上述混合物转移至液氮中急冻 5min，再 37℃热击 5min，迅速转移至冰上 2min。
3. 加入 800 μ l 无抗生素的 YEB 液体培养基，28℃，220rpm 振荡培养 3-4h。
4. 6000rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块涂布于含相应抗生素的 YEB 平板上，28℃倒置培养 2d。
(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 kan 和 Rif 时，Rif 的用量为 10 μ g/ml 即可)。

注意事项

1. 加入质粒的体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 混入质粒时应轻柔操作。
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。