

## DL-LBA4404 Chemically Competent Cell

### DL-LBA4404 感受态细胞

#### 目录号

DLC302

#### 基因型

Ach5 (rif<sup>R</sup>) Ti pAL4404 (strep<sup>R</sup>) Octopine

#### 产品简介

本产品由根癌农杆菌LBA4404菌株开发而来,适用于番茄、烟草等植物的转基因操作。该菌株染色体背景为Ach5,核基因上含有筛选标签——利福平抗性基因rif;该菌株携带的pAL4404是一种无自身转运功能的章鱼碱型Ti质粒,质粒上含有的vir基因是T-DNA插入植物基因组必需的元件,可以帮助转入的双元载体T-DNA顺利转移;同时pAL4404质粒含有的strep筛选标签,赋予LBA4404菌株链霉素抗性;本产品经优化的感受态制备工艺制备而成,使用pCAMBIA2301质粒DNA检测,转化效率可达 $1 \times 10^4$  cfu/ $\mu$ g。

#### 产品组成

| 组分                                   | 规格                         |
|--------------------------------------|----------------------------|
| DL-LBA4404 Chemically Competent Cell | 100 $\mu$ L $\times$ 10 支  |
| *pCAMBIA2301(Control Vector)         | 10 $\mu$ L(10 ng/ $\mu$ L) |

\*阳性对照质粒,用于检测感受态细胞的质量,抗性为kana。

#### 产品应用

本产品适用于番茄、烟草等植物的转基因操作。

#### 使用方法

- 1.将-83~-78℃保存的农杆菌感受态放置于室温或指尖捏住片刻,待其部分融化后插入冰上;
- 2.加入目的质粒,轻轻混匀依次于冰上静置5 min、液氮5 min、37℃水浴5 min、冰浴5 min;
- 3.向离心管中加入700  $\mu$ L不含抗生素的无菌液体培养基(YEB或LB),混匀后28℃,200 rpm复苏2~3 h;
- 4.根据实验需要,吸取不同体积的复苏液均匀涂布到含相应抗生素的YEB或LB平板上,将平板倒置放于28℃培养箱培养2~3天。

#### 注意事项

- 实验过程轻柔操作;
- 质粒用量通常为0.01~1  $\mu$ g,可通过用量梯度预试验确定合适的质粒用量;
- 质粒不纯或存在乙醇等有机溶剂的污染会影响其转化效率;
- 利福平推荐工作浓度为20~25  $\mu$ g/mL,过高的抗生素浓度会影响其生长速率和转化效率。本公司计算感受态转化效率所用的是20  $\mu$ g/mL rif和50  $\mu$ g/mL kana的YEB平板。

#### 备注

##### 1.LBA4404农杆菌抗生素配方

| 抗生素           | 配方                            | 储存浓度     | 工作浓度          |
|---------------|-------------------------------|----------|---------------|
| 利福平 (rif)     | DMSO溶解,<br>0.22 $\mu$ m滤膜过滤除菌 | 20 mg/mL | 20 mg/mL      |
| 链霉素 (strep)   | 双蒸水溶解,<br>0.22 $\mu$ m滤膜过滤除菌  | 50 mg/mL | 50 $\mu$ g/mL |
| 硫酸卡那霉素 (kana) | 双蒸水溶解,<br>0.22 $\mu$ m滤膜过滤除菌  | 50 mg/mL | 50 $\mu$ g/mL |

## 2. LB及YEB培养基的配制

### 1) LB液体培养基 (1 L):

|                       |      |
|-----------------------|------|
| 胰蛋白胨 (Tryptone)       | 10 g |
| 酵母提取物 (Yeast extract) | 5 g  |
| NaCl                  | 10 g |

### 2) YEB液体培养基 (1 L):

|                                       |        |
|---------------------------------------|--------|
| 胰蛋白胨 (Tryptone)                       | 5 g    |
| 酵母提取物 (Yeast extract)                 | 1 g    |
| 牛肉 (浸) 膏                              | 5 g    |
| 蔗糖 (Sucrose)                          | 5 g    |
| MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O | 0.49 g |

根据以上配方,称取相应质量的试剂至合适的仪器中,加入去离子水至1 L,摇晃混匀,使用NaOH溶液调节pH至7.0。如配制固体培养基,则另加入15 g琼脂粉(Agar)。配制完成后,115℃高温高压灭菌30 min。

### 保存条件

-83~-78℃保存,保质期6个月。≤-78℃运输。

### 技术支持

公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:  
product@tsingke.com.cn。

## 关联产品推荐

| 产品名称               | 货号     | 应用                       |
|--------------------|--------|--------------------------|
| FlashPure快速质粒小提试剂盒 | DLN702 | 适用于1~5 mL菌液质粒DNA快速提取     |
| T5菌P专家             | DLP102 | 适用于克隆鉴定、以微生物为模板的直接扩增实验   |
| T8高保真PCR预混液        | DLP201 | 适用于基因组、cDNA、噬菌体、质粒等模板的扩增 |
| Trelief® 无缝克隆试剂盒   | DLV201 | 适用于无缝克隆与定点突变等实验          |
| Trelief® 5a感受态细胞   | DLC101 | 适用于常规克隆、蓝白斑筛选等实验         |

