

DL-LBA4404 Chemically Competent Cell

DL-LBA4404 感受态细胞

目录号

DLC302

基因型

Ach5 (rif^R) Ti pAL4404 (strep^R) 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 1×10^8 cfu/ μ g。

产品组成

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

- 将-83~-78 $^{\circ}$ C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;
- 加入目的质粒,轻轻混匀依次于冰上静置5 min、液氮5 min、37 $^{\circ}$ C水浴5 min、冰浴5 min;
- 向离心管中加入700 μ L不含抗生素的无菌液体培养基(YEB或LB),混匀后28 $^{\circ}$ C,200 rpm复苏2~3 h;
- 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 $^{\circ}$ C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 μ 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 μ 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 μ g/mL rif和50 μ 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, 0.22 μ m滤膜过滤除菌	20 mg/mL	20 μ g/mL
链霉素 (strep)	双蒸水溶解, 0.22 μ m滤膜过滤除菌	50 mg/mL	50 μ g/mL
硫酸卡那霉素 (kana)	双蒸水溶解, 0.22 μ m滤膜过滤除菌	50 mg/mL	50 μ 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 ₄ ·7H ₂ 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°C高温高压灭菌30 min。

保存条件

-83--78°C保存,保质期6个月。≤-78°C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

