



ZOMANBIO

Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

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。

版本号: 2023-07-07

LBA4404 (pSoup-p19) 感受态细胞

LBA4404(pSoup-p19) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1415

目录编号

■ ZC1415-1

产品名称

LBA4404(pSoup-p19) 感受态细胞

包装单位

100 μ l $\times$ 10

备注: 以上包装均含有 pGs2 (10ng/ μ l) 5 μ l (质量控制用, 请转化提取后使用)。

储存: -70 $^{\circ}$ C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 LBA4404(pSoup-p19) 根癌农杆菌化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pGs2(卡那霉素抗性) 质粒检测转化效率高达 10^4 cfu/ μ g DNA。

基因型为: Ach5 (rif^r) Ti pAL4404 (strep^r) Octopine(pSoup-p19-tet^r)

产品特点:

P19 蛋白来源于番茄丛矮病毒, 可抑制宿主对外源基因的 RNA 沉默效应, 提高异源基因转录本的稳定性, 进而促进异源蛋白的表达, 广泛应用于转基因植物及烟草叶片, 拟南芥叶片, 番茄叶片或原生质体的瞬时表达系统中。LBA4404 菌株为 Ach5 型背景, 核基因中含有筛选标签—利福平抗性基因 rif, 为了便于转化操作, 此菌株携带一无自身转运功能的章鱼碱型 Ti 质粒 pAL4404, 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, pAL4404 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)。pAL4404 型 Ti 质粒含有筛选标签: strep, 赋予 LBA4404(pSoup-p19) 菌株链霉素抗性。在 LBA4404 菌株中转入 help 质粒: pSoup-p19 即为 LBA4404(pSoup-p19) 菌株, 可帮助 pGreen, 62SK, pGs2 系列质粒在农杆菌中复制, 同时赋予该菌株四环素 (tet) 抗性, 适用于菸草、番茄、烟草等植物的转基因操作。

操作步骤: (冻融法)

以下步骤均按无菌条件的标准进行:

- 1、取 -70 $^{\circ}$ C 保存的农杆菌感受态于室温或冰水浴片刻待其部分融化, 处于冰水混合状态时插入冰浴中。
- 2、每 100 μ l 感受态加 1 μ g 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 $^{\circ}$ C 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
- 3、加入 800 μ l 无抗生素的 LB 或 YEB 液体培养基, 于 28 $^{\circ}$ C 振荡培养 2~3 小时。
- 4、5000rpm 离心 1min 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 LB 平板上, 倒置放于 28 $^{\circ}$ C 培养箱培养 2-3 天。

当平板只含有 50 μ g/ml kan 时, 28 $^{\circ}$ C 培养 48h 即可; 平板中同时加入 50 μ g/ml kan, 10 μ g/ml rif 时, 需 28 $^{\circ}$ C 培养 48-60h; 如果使用的平板含有 50 μ g/ml rif 则需要 28 $^{\circ}$ C 培养 72-90 h。



ZOMANBIO

Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

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。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。
- 感受态细胞应保存在 -70°C , 应避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 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。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量, 本公司生产的 LBA4404(pSoup-p19) 化学转化感受态细胞具有四环素抗性, 但在转入目标质粒涂板筛选阳性克隆时, 只需加入目标质粒抗性的抗生素, 不加四环素。
- 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。
- 利福平浓度不应高于 $25\mu\text{g/ml}$, 过高的利福平浓度不利于农杆菌生长, 会降低其生长速度和转化效率。
- 培养基中加入利福平的目的是防止杂菌生长、筛选农杆菌; 根据所用菌株抗性加入链霉素或庆大霉素可防止 Ti 质粒丢失, 但链霉素不利于农杆菌的转基因操作, 培养农杆菌时不考虑链霉素或庆大霉素, Ti 质粒丢失的概率极低 (可以忽略)。

ZOMANBIO