

LBA4404 感受态说明书

产品规格 (PG1054)

LBA4404:	100 μ l \times 10 支
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C (12 个月)

产品说明

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 菌株链霉素抗性，适用于菸草、番茄、烟草等植物的转基因操作。本公司生产的 LBA4404 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pCAMBIA2301 质粒检测转化效率 $>10^4$ 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 无抗生素的低盐 LB 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低盐 LB 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 50 μ g/ml kan，20 μ g/ml rif 时，需 28℃培养 60h；如果使用的平板含有 50 μ g/ml rif 则需要 28℃培养 72-90h)。

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。
4. 利福平浓度不应高于 25 μ g/ml，过高不利于农杆菌生长，且会降低感受态的转化效率。