

Code No. 9115

研究用

TaKaRa

Agrobacterium tumefaciens
LBA4404 Electro-Cells

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 使用方法	1
● 质量标准	2
● 参考文献	2
● 关联产品	2

● 制品说明

根癌农杆菌 (*Rhizobium radiobacter*) 可转化自身 Ti 质粒的 T-DNA (transfer DNA) 进入宿主植物细胞, 并将此 DNA 插入植物染色体 DNA。T-DNA 上的插入基因表达后, 转入到被称为 Crown gall 的肿瘤细胞。利用这种基因转化机制, 发明了用于植物转化的 binary vector method¹⁾。这种体系中, Ti 质粒中 T-DNA 上的致病基因被选择性标记基因和外源目的基因所取代, 通过农杆菌介导的基因转移将目的基因引入到植物染色体 DNA 中。

Agrobacterium tumefaciens strain LBA4404 以及 binary vector method 首先在荷兰的 Leiden University 被 Dr. P. J. J. Hooykaas 发现。*Agrobacterium tumefaciens* 含有 pAL4404 质粒, 其只含有 T-DNA *vir* 区域 (*vir* 基因诱导和 T-DNA 转移), 是一种广泛用于植物细胞转化实验的菌株。本制品是电转化的感受态细胞³⁾。使用 *A. tumefaciens* 和 binary vector method, 可以进行各种植物细胞的感染 (转染) 实验。

● 制品内容

<i>Agrobacterium tumefaciens</i> LBA4404 Electro-Cells	40 μ l \times 5
pRI 900 DNA* ¹ (1 ng/ μ l)	10 μ l
SOC Medium* ²	1 ml \times 10

*1 pRI 900 DNA : 去除了 pRI 910 DNA (Code No. 3261) 上多克隆位点的 DNA。

*2 SOC Medium:

2%	Tryptone
0.5%	Yeast extract
10 mM	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgSO ₄
10 mM	MgCl ₂
20 mM	Glucose

● 保 存

-80°C

注意: -80°C 保存。如果保存温度不恒定, 转化效率将会降低。可使用附带的 pRI 900 DNA 确定细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 使用方法

转化操作示例 (使用 Bio-Rad Gene Pulser II 和电转杯时)

1. *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 Electro-Cells 使用前在冰上融化。
2. 在 20 μ l 感受态细胞 (于冰上放置的 1.5 ml tube 中) 中加入 1 μ l (1 ng) 的双元载体 DNA, 轻微混合。
*: 如果不立刻使用感受态细胞, 用干冰/乙醇速冻后 -80°C 保存。但是转化效率会降低。
3. 将 0.1 cm 电转杯 (Bio-Rad) 置于冰中预冷。
4. 设置 Gene Pulser II 为 25 μ F, 200 Ω , 2 - 2.5 kV。*¹
5. 将感受态细胞和步骤 2 制备的 DNA 转入电转杯, 收集底部混合物。将电转杯放入 Gene Pulser II 中进行电冲击。
6. 取出电转杯, 添加 1 ml SOC 培养基*², 移入 14 ml 的圆底 tube (Falcon tubes 等)。
7. 30°C 振荡培养 1 小时 (100 rpm)。将 50-100 μ l 的细胞*³ 涂于含有 50 μ g/ml 卡那霉素*⁴ 和 100 μ g/ml 链霉素的 LB 平板。30°C 保温 48 小时。

*1 反应条件根据电转杯类型和电击仪器类型而异。当使用 MicroPulser 时, 设定为 2.5 kV。

- *2 可以使用不同的培养基，但转化效率可能会降低。
- *3 建议使用 10 倍稀释的和不稀释的转化液同时进行平板涂布。
- *4 当使用不含有卡那霉素抗性的双元载体时，使用适当的抗生素。

● 质量标准

根据使用方法，转入 1 ng pRI 900 DNA，涂于含有卡那霉素和链霉素的平板上进行筛选。
转化效率：> 5×10^6 colonies/ μ g pRI 900 DNA

● 参考文献

- 1) A Hoekema, P R Hirsch, P J J Hooykaas, and R A Schilperoort. *Nature* . (1983) **303**: 179–180.
- 2) G Ooms, P J J Hooykaas, R J M V Veen, P V Beelen, T J G Regensburg–Tuink, R A Schilperoort. *Plasmid* . (1982) **7**: 15–29.
- 3) S Wen–jun and B G Forde. *Nucleic Acids Research* . (1989)**17** (20): 8385.

● 关联产品

- pRI 909 DNA (Code No. 3260)
- pRI 910 DNA (Code No. 3261)
- pRI 101–AN DNA (Code No. 3262)
- pRI 101–ON DNA (Code No. 3263)
- pRI 201–AN DNA (Code No. 3264)
- pRI 201–ON DNA (Code No. 3265)
- pRI 201–AN–GUS DNA (Code No. 3266)
- pRI 201–ON–GUS DNA (Code No. 3267)

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联系我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确

使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <https://www.takarabiomed.com.cn>

v202005Da