

GV3101 根癌农杆菌感受态细胞

使用说明书 (版本号: Ver.0.0.1)

产品特点

- ◇ GV3101 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, 经植物二元 pCAMBIA2301M 质粒检测转化效率高达 10^9 cfu/ μ g DNA, -70°C 保存六个月内转化效率不发生改变。
- ◇ 基因型为: C58 (rif^R) Ti pMP90 (pTiC58DT-DNA) (Gent^R/Strep^R) Nopaline

产品货号:

JSR-E-1801(10 X 100ul)



扫描二维码了解更多产品信息

目录 Contents

产品特点	1
操作步骤 (冻融法)	1
注意事项	1

产品特点

GV3101 菌株为 C58 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胭脂碱型 Ti 质粒 pMP90(pTiC58DT-DNA)，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，pMP90(pTiC58DT-DNA) 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）。

pMP90(pTiC58DT-DNA) 型 Ti 质粒含有筛选标签：Strep 和 Gent，赋予 GV3101 菌株链霉素和庆大霉素抗性，适用于拟南芥、烟草、玉米、土豆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°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 100μl 感受态加 1μg 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°C 水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
3. 加入 800μl 无抗生素的 LB 或 2×YT 液体培养基，于 28°C 振荡培养 2-3 小时。
4. 5000rpm 离心 1min 收菌，留取 100μl 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°C 培养箱培养 2-3 天。

注意事项

- ◇ 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。
- ◇ 为了避免假阳性出现，建议同时使用 50μg/ml Rif 与 50μg/ml Kan 进行抗性筛选；若载体为其他抗性时更换 Kan 为相应抗生素即可，本公司长期实验经验表明，50μg/ml Rif 能抑制所有大肠杆菌及一定程度上抑制其他杂菌，如霉菌，真菌等。不适用于 Amp 抗性质粒。