GV3101农杆菌感受态细胞

（使用说明书 Ver.0.0.3）

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：gent，赋予 GV3101 菌株庆大霉素抗性，适用于拟南芥、烟草、玉米、土豆等植物的转基因操作。

产品货号：

JSR1801

扫描二维码了解更多产品信息

产品信息

产品货号：JSR1801

储存条件：-80℃（6个月）

产品规格：100 μL/支

基因型：C58 (rif^R) Ti pMP90 (pTiC58DT-DNA) ($gent^R$) Nopaline

使用方法

1. 取-80℃保存的农杆菌感受态于室温，待其部分融化(冰水混合状态)，插入冰中。
2. 每 100 μL 感受态加入0.01-1 μg质粒DNA (第一次使用前最好做预实验，确定所加质粒的量)，用手拨打 管底混匀，依次于冰上静置5 min、液氮5 min、37 ℃水浴5 min、冰浴5 min。
3. 加入 700 μL 无抗生素的LB或YEB液体培养基，于28 ℃振荡培养2~3 h。
4. 6000 rpm 离心 1 min 收菌，留取 100 μL 左右上清，轻轻吹打重悬菌块，涂布于含相应抗生素的LB或 YEB平板上，28℃培养箱培养2-3 d (当平板只含有50 μg/mL kan时，28℃培养48 h即可；平板中同时加 入50 μg/mL kan，20 μg/mL rif 时，需28 ℃培养 60 h；如果使用的平板含有50 μg/mL rif，则需要28 ℃培 养72-90 h)。

注意事项

1. 售出后一年内产品可质保。试剂已经过大量常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来操作。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。
2. 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。
3. 混入质粒时应轻柔操作。转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 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。
5. 利福平浓度不应高于25 μg/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。
6. 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，所以一般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)。
7. 不适用于氨苄青霉素抗性质粒。