



GV3101 (pJIC SA_Rep) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC310)

GV3101 (pJIC SA_Rep) :	100μl/支
pGs2 (control vector , 10ng/μl) :	5μl
保存条件(保质期) :	-80℃ (12 个月)

产品介绍

GV3101(pJIC SA_Rep)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;在 GV3101 菌株中转入 help 质粒 : pJIC SA_Rep 即为 GV3101(pJIC SA_Rep)菌株,可帮助 pgR106, pgR107, pGreen, 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。适用于拟南芥、烟草、玉米、土豆等植物的转基因操作。本公司生产的 GV3101(pJIC SA_Rep)化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pGs2(卡那霉素抗性)质粒检测转化效率 $>10^3$ cfu/μg DNA。

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

操作方法

1. 取 -80℃保存的农杆菌感受态于室温或手心片刻待其部分融化,处于冰水混合状态时插入冰中。
2. 每 100 μl 感受态加入 1 -5ug 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℃水浴 5 分钟、冰浴 5 分钟。
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 小时。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌,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,倒置放于 28℃培养箱培养 2-3 天

注意事项

1. 加入质粒时体积不应大于感受态体积的 1/10,混入质粒时应轻柔操作。
2. 感受态细胞应保存在 -80℃,应避免反复冻融,以免降低感受态细胞的转化效率。
3. 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,
4. 经验显示:农杆菌转化效率本身比较低,加入 1ug 质粒,离心全涂约有 1000 个克隆,为了转化成功,建议每次加入最大体积转化感受态。即 10ul 质粒转化 100ul 感受态细胞。
5. 不适用于 Amp 抗性质粒。