



GV3101(pSoup) 电转感受态细胞

GV3101(pSoup) Electroporation Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1406D

目录编号	产品名称	包装单位
□ ZC1406D	GV3101(pSoup) 电转感受态细胞	10×50μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pGs2 (10ng/μl)5μl (质量控制用)。

储存: -70℃ 保存六个月。

产品介绍:

GV3101(pSoup) 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: pSoup 即为 GV3101(pSoup) 菌株, 可帮助 pGreen, 62SK, 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。GV3101(pSoup) 电转感受态特别适用于大质粒的转化: 经 pGs2(卡那霉素抗性) 质粒检测转化效率 $>10^5$ cfu/μg DNA; 经 pGs2-ZH(卡那霉素抗性) 质粒 (40 kb) 检测转化效率可达 5×10^3 cfu/μg DNA。

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

操作方法:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟, 待其沥干水分, 正置 5 分钟, 使乙醇充分挥发, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5 分钟充分降温。

2. 取 -80℃ 保存的农杆菌感受态插入冰中 5 分钟, 待其融化, 加入 1-5μg 质粒 DNA (质粒体积不大于 6μl, 最好用试剂盒抽提, 双蒸水溶解), 用手拨打管底混匀, 立即插入冰中, 用 200μl 枪头将感受态-质粒混合物快速移到电击杯中, 盖上杯盖, 空管保留待用。

3. 启动电转仪, 设置参数: C=25μF, PC=200Ω, V=2400V (此参数为 Biorad 推荐, 使用者也可按所用电转仪推荐的 protocol 操作), 将电击杯快速放入电转槽中, 电击完成快速插入冰中, 加入 700μl 无抗生素的 LB 并转移到感受态空管中, 28℃ 振荡培养 2~3 小时。

4. 6000rpm 离心 1 分钟收菌, 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 或 YEB 平板上, 倒置放于 28℃ 培养箱培养 2-3 天。

(当平板只含有 50μg/ml kan 时, 28℃ 培养 48 h 即可; 平板中同时加入 50μg/ml kan, 20μg/ml rif 时, 需 28℃ 培养 60h; 如果使用的平板含有 50μg/ml rif 则需要 28℃ 培养 72-90h)。



ZOMANBIO

Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

注意事项：

1. 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。
2. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
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 $\mu\text{g/ml}$, 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。本公司感受态计算转化效率时所用平板只含有 50 $\mu\text{g/ml}$ kan, 若所用平板含有 20 $\mu\text{g/ml}$ rif 则转化效率降低到 1/2。
5. 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)。

ZOMANBIO