

## GV3101 化学转化感受态使用说明

### ◇ 产品简介

本品为农杆菌 GV3101 (基因型: C58 (rif<sup>R</sup>) Ti pMP90 (pTiC58DT-DNA) (gent<sup>R</sup>) Nopaline) 制作的感受态, 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。本公司生产的 GV3101 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pCAMBIA2301 质粒 (12739bp, Kan<sup>R</sup>) 检测转化效率 >10<sup>4</sup> cfu/μg DNA。

### ◇ 产品规格

品名	货号	规格
GV3101 化学转化感受态	AT003-H-S	10×100 μL
	AT003-H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

### ◇ 转化方法

1. 从-80℃冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入目的质粒 (约 500 ng), 轻弹使混合均匀;
2. 冰中孵育 5 min, 液氮中放置 5 min, 放 37℃水浴锅中热激 5 min, 立即插入冰中静置 5 min;
3. 添加 900 μL YEB 液体培养基, 28℃摇床 220 rpm 培养 2-3 h;
4. 5000 rpm 离心, 倒掉上清, 余下菌液均匀涂布抗性平板, 28℃培养箱放置 2-3 天。

### ◇ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞, 用手指轻弹混匀即可。
3. 利福平使用浓度 <25 μg/ml, 庆大霉素使用浓度 <50 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; Ti 质粒丢失概率极低, 可不用庆大霉素, 以提高转基因效率。