

GV3101(pSoup-p19) 化学转化感受态使用说明

◆ 产品简介

P19 蛋白来源于番茄丛矮病毒，可抑制宿主对外源基因的 RNA 沉默效应，提高异源基因转录本的稳定性，进而促进异源蛋白的表达，广泛应用于转基因植物及烟草叶片，拟南芥叶片，番茄叶片或原生质体的瞬时表达系统中。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；在 GV3101 菌株中转入 help 质粒：pSoup-p19 即为 GV3101(pSoup-p19) 菌株，可帮助 pGreen, 62SK, pGs2 等质粒在农杆菌中复制，同时赋予该菌株四环素 (tet^R) 抗性。适用于拟南芥、烟草、玉米、土豆等植物的转基因操作。

产品规格

品名	货号	规格
GV3101(pSoup-p19)	AT009H-S	10×100 μl
化学转化感受态	AT009H-M	50×100 μl

保存条件：-80℃ (12 个月)

转化方法

1. 取-80℃保存的农杆菌感受态于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 0.01-1 μg 质粒 DNA (转化效率较高，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 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 YEB 液体培养基，于 28℃振荡培养 2~3 小时。
4. 6000 rpm 离心一分钟收菌，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 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；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. 不能用移液器抽吸感受态细胞，用手指轻弹混匀即可。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。