

克
必
隆
系
列

CAT#:140384-10
干冰运输, -80℃保存

TIANDZ

农杆菌 GV3101 化学感受态细胞

Agrobacterium GV3101 Chemical Competent Cell

使用手册 V1.2

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	<p>本产品为 GV3101 农杆菌化学感受态细胞,其具有利福平和庆大霉素抗性,适用于拟南芥、烟草、玉米、土豆等植物的转基因操作,经 pCAMBIA2301 质粒检测转化效率高达 10^4cfu/μg。</p> <p>基因型: C58 (rif^R) Ti pMP90 (pTiC58DT-DNA) (gent^R/strep^R) Nopaline</p>			
规格及成分	成分	编号	10 支包装	
	GV3101 农杆菌感受态细胞	140384	10×100 μ L	
	使用手册	1 份		
运输及保存	干冰运输, -80℃保存, 有效期一年。			
自备试剂	质粒 DNA、液氮等			
使用方法	<p>转化前准备</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 冰水浴和 37℃水浴。 2. 液氮或干冰/乙醇混合物。 3. 将抗性平板在 28℃培养箱中平衡至少 15 分钟。 <p>转化方法</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 取-80℃保存的农杆菌感受态细胞于冰水浴中融化。 2. 无菌条件下, 向刚刚融化的感受态细胞悬液中加入需要转化的质粒, 每 100 μL 感受态细胞加 1ug 质粒 DNA, 轻柔混匀。冰水浴中静置 10 分钟。 3. 将离心管置于液氮中速冻 5 分钟 (注: 也可以用干冰和无水乙醇混合物替代液氮)。 4. 迅速将离心管置于 37℃水浴静置中 5 分钟, 不要晃动水面。然后快速转至冰水浴中静置 5 分钟。 5. 加入 800 μL 无抗生素的 2×YT 或 LB 液体培养基, 28-30℃振荡培养 2~3 小时。使菌体复苏, 表达抗性。 6. 5000 rpm 离心 1 分钟收菌, 保留 100 μL 左右上清, 轻轻吹打重悬菌体, 均匀涂布到含有相应抗生素的 LB 固体培养基平板上, 待平板中的液体完全吸收后, 倒置平板, 28-30℃培养 48-72 小时。 <p>注: 当平板只含有 50 ug/mL kan 时, 28℃培养 48 小时即可; 平板中同时加入 50 ug/mL kan, 20 ug/mL rif 时, 需 28℃培养 60h; 如果使用的平板含有 50 ug/mL rif 则需要 28℃培养 72-90 小时。</p>			

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. 混入质粒时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 利福平浓度不应高于 25 ug/uL，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 ug/mL kan，若所用平板含有 20 ug/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）。

6. 相关抗生素配方：

抗生素	配方	原液	工作液
羧苄青霉素 (carb)	双蒸水溶解	50 mg/mL	50 ug/mL
硫酸卡那霉素 (kan)	双蒸水溶解	50 mg/mL	50 ug/mL
链霉素 (strep)	双蒸水溶解	10 mg/mL	50 ug/mL
利福平 (rif)	DMSO 溶解	10 mg/mL	20 ug/mL
庆大霉素 (gent)	双蒸水溶解	20 mg/mL	40 ug/mL

表中抗生素均需要 0.22 um 滤膜过滤除菌后方可使用。

关联产品

pCAMBIA2301 质粒 DNA (CAT#:60908-1310)