

## GV3101 (pSoup-p19) 感受态说明书

### 产品规格 (PG1056)

GV3101(pSoup-p19):	100 $\mu$ l $\times$ 10 支
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C (12 个月)

### 产品说明

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) 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(pSoup-p19) 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/ $\mu$ g DNA。

## 操作方法

1. 取-80℃保存的农杆菌感受态于冰上融化，每 100μl 感受态加入 0.01-0.1μg 质粒 DNA，轻弹混匀，冰浴 15min。
2. 将上述混合物转移至液氮中急冻 5min，再 37℃热击 5min，迅速转移至冰上 5min。
3. 加入 800μl 无抗生素的低盐 LB 液体培养基，28℃，220rpm 振荡培养 3-4h。
4. 6000rpm 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低盐 LB 平板上，28℃倒置培养 2-3d。

（当平板只含有 50μg/ml kan 时，28℃培养 48h 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）。

## 注意事项

1. 加入质粒的体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. GV3101(pSoup-p19)感受态具有四环素抗性，但在转入目标质粒筛选阳性克隆时，只需加入目标质粒抗性的抗生素，不加四环素。
3. 培养基加利福平是防止杂菌生长；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，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）。
4. 利福平浓度不应高于 25μg/ml，过高不利于农杆菌生长，且会降低感受态的转化效率。