红椿毛状根遗传转化体系的建立

袁千允　雷春霞　庄薪婷　缪雨杰　王国林　李培*

（1. 华南农业大学林学与风景园林学院，广州 510642；2. 广东省森林植物种质资源创新开发与利用重点实验室，广州 510642）

Establishment of a Hairy Root Genetic Transformation System in *Toona ciliata*

YUAN Qian-yun　LEI Chun-xia　ZHUANG Xin-ting　MIAO Yu-jie　WANG Guo-lin

LI Pei*

(1. *College of Forestry and Landscape Architecture*, *South China Agricultural University*, *Guangzhou* 510642; 2. *Guangdong Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm*, *Guangzhou* 510642)

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2026-0740

附表 1　*TcGRF* 和 *TcGIF* 克隆引物信息

Supplementary Table 1 Primer information for cloning of *TcGRF* and *TcGIF*

引物名称 Primer name	引物序列（5’—3’） Primer sequence (5'—3')
TcGRF8-F	GTACCCGGGGATCCTATGAATAGTGGCGGTAATGGC
TcGRF8-R	GGCAGCGGCCGCGTTATCATGGGGAGATAAAGAACTTGTT
TcGRF9-F	GTACCCGGGGATCCTATGAATAGTGGTGGTCATGGC
TcGRF9-R	GGCAGCGGCCGCAAAAAAAAAAAAATACCTTCATTTGAAACTCA
TcGIF1-F	GCGGCCGCTGCCATGCAGCAGCACCTGA
TcGIF1-R	CGGTACTAGTGTCGACTTCAATTCCCATCATCAGCC
TcGIF2-F	GCGGCCGCTGCCATGCAGCAGCACCTGATTC
TcGIF2-R	CGGTACTAGTGTCGACTTCAATTCCCATCATCGGCCC

附表2 酶切反应体系

Supplementary Table 2 Restriction enzyme digestion reaction system

组分 Component	用量 Volume
快速内切酶 XbaI FastDigest XbaI	1 μL
RUBY 质粒 RUBY plasmid	1 μg
Colour buffer	2 μL
ddH_2O	Up to 20 μL

附表3 同源重组反应体系

Supplementary Table 3 Homologous recombination reaction system

组分 Component	用量 Volume
线性化RUBY质粒	200 ng
*TcGRF*带同源臂的胶回收产物	50 ng
*TcGIF*带同源臂的胶回收产物	50 ng
同源重组酶（Super Fusion Cloning Mix 2×）	5 μL
ddH_2O	Up to 10 μL

附表4 PCR反应体系

Supplementary Table 4 PCR reaction system

组分 Component	用量 Volume
2x XK Taq PCR Mix（Colony）	12.5 μL
正向引物（10 μmol/L） Forward primer (10 μmol/L)	1 μL
反向引物（10 μmol/L） Reverse primer (10 μmol/L)	1 μL
模板 Template	3 μL
ddH_2O	to 25 μL

附表5 PCR反应程序

Supplementary Table 5 PCR reaction program

步骤 Step	条件 Conditions	循环数 Cycles
预变性 Initial denaturation	95 ℃，3 min	1
变性 Denaturation	95 ℃，10 sec	35
退火 Annealing	Tm值+3~5 ℃，15 sec	
延伸 Extension	72 ℃，10 s/kb	
终延伸 Final extension	72 ℃，2 min	1
保温 Hold	12 ℃，∞	1

附表 6 转基因红椿毛状根鉴定 PCR 反应体系表

Supplementary Table 6 PCR reaction system for identification of transgenic hairy roots of *Toona ciliata*

组分 Component	用量 Volume
2×TSINGKE® Master Mix	12.5 μL
模板 DNA Template DNA	1 μg
上下游引物各 Each of forward and reverse primers	0.5 μL
ddH_2O	to 25 μL

附表 7 转基因红椿毛状根鉴定 PCR 反应程序表

Supplementary Table 7 PCR reaction program for identifying transgenic hairy roots of *Toona ciliata*

步骤 Step	条件 Conditions	循环数 Cycles
预变性 Initial denaturation	94 ℃，5 min	30
变性 Denaturation	94 ℃，30 s	
退火 Annealing	55 ℃，30 s	
延伸 Extension	72 ℃，15 s	
终延伸 Final extension	72 ℃，10 min	
保温 Hold	12 ℃，∞	