



EHA105根癌农杆菌感受态细胞

Cat.NO. ZC142

目录编号

□ ZC142

产品名称

EHA105根癌农杆菌感受态细胞

包装单位

20×100μl

备注：以上包装均含有pCAMBIA2301(10ng/μl)5μl（质量控制用）。

储存: -70℃ 保存六个月。

产品介绍：

本公司生产的EHA105根癌农杆菌转化感受态细胞经特殊工艺制作，可用于DNA的化学转化，经植物双元pCAMBIA2301质粒检测转化效率高达 10^3 cfu/ugDNA，-70℃保存六个月内转化效率不发生改变。

基因型为：C58 (rif^R) Ti pEHA105 (pTiBo542DT-DNA) (strep^R) Succinamopine

产品特点：

EHA105菌株由EHA101菌株改造而来，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琥珀碱型Ti质粒pEHA105 (pTiBo542DT-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，pEHA105 (pTiBo542DT-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）。pEHA105 (pTiBo542DT-DNA)型Ti质粒含有筛选标签：strep，赋予EHA105菌株链霉素抗性，适用于水稻、烟草等植物的转基因操作。

操作步骤：（冻融法）

以下步骤均按无菌条件的标准进行：

- 1、取-70℃保存的农杆菌感受态于室温或冰水浴片刻待其部分融化，处于冰水混合状态时插入冰浴中。
- 2、每100μl感受态加1μg质粒DNA，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800μl无抗生素的LB或2×YT液体培养基，于28℃振荡培养2~3小时。
- 4、5000rpm离心1min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LB平板上，倒置放于28℃培养箱培养2-3天。

提示：

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。
- 感受态细胞应保存在 - 70℃，避免反复化冻，以避免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
- 为了避免假阳性出现，建议同时使用50ug/ml Rif与50ug/ml Kan进行抗性筛选；若载体为其它抗性时更换Kan为相应抗生素即可，本公司长期实验经验表明，50ug/ml Rif能抑制所有大肠杆菌以及一定程度上抑制其它杂菌，如霉菌，真菌等。