



EHA105 根癌农杆菌感受态细胞

EHA105 Chemically Competent Cell

版本号: 2018-10-31

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 pCAMBIA2301M(100ng/μl)5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 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, 经植物二元 pCAMBIA2301M 质粒检测转化效率高达 10^3 cfu/μg DNA, -70°C 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°C 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°C 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°C 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°C 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°C, 应避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 为了避免假阳性出现, 建议同时使用 50μg/ml Rif 与 50μg/ml Kan 进行抗性筛选; 若载体为其他抗性时更换 Kan 为相应抗生素即可, 本公司长期实验经验表明, 50μg/ml Rif 能抑制所有大肠杆菌及一定程度上抑制其他杂菌, 如霉菌, 真菌等。