



# EHA105(pSoup-P19) 感受态细胞

## EHA105(pSoup-P19) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1413

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1413-1	EHA105(pSoup-P19) 感受态细胞	100μl×10

备注: 以上包装均含有 pGs2 (10ng/μl) 5μl (质量控制用, 请转化提取后使用)。  
储存: -70°C 保存六个月。

### 产品介绍:

本公司生产的 EHA105(pSoup-p19) 根癌农杆菌化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pGs2(卡那霉素抗性) 质粒检测转化效率高达  $10^4$  cfu/μg DNA。

基因型为: C58 (rif<sup>r</sup>) Ti pEHA105 (pTiBo542DT-DNA) Succinamopine (pSoup-p19-tet<sup>r</sup>)

### 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)。在 EHA105 菌株中转入 help 质粒: pSoup-p19 即为 EHA105 (pSoup-p19) 菌株, 可帮助 pGreen, 62SK, pGs2 系列质粒在农杆菌中复制, 同时赋予该菌株四环素 (tet<sup>r</sup>) 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 YEB 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。

当平板只含有 50μg/ml kan 时, 28°C 培养 48h 即可; 平板中同时加入 50μg/ml kan, 10μg/ml rif 时, 需 28°C 培养 48-60h; 平板中同时加入 50μg/ml kan, 20μg/ml rif 时, 需 28°C 培养 60-72h; EHA105 平板或液体培养时均不建议使用大于 20μg/ml 的利福平浓度。

- 5、液体摇菌: 农杆菌是好氧菌, 固体平板上菌落的生长和液体摇菌均需要大量氧气, 液体摇菌成功的关键是保证营养液中溶解足够的氧气: (1) 要用透气试管或三角瓶; (2) 保证营养液有大的横截面和小的厚度; (3) 抗生素尽量少加或不加, 必须添加的抗生素尽量使用低浓度, 不使用高浓度。

推荐小摇方法: 12-15ml 的圆底透气试管中加入 1ml 含有抗生素的 LB, 新鲜的农杆菌平板中取 1-2 个单菌落接种, 30°C, 200rpm 摇菌 24-48h;

推荐大摇方法: 100ml 透气三角瓶中加入不超过 20ml 含有抗生素的 LB, 取小摇菌液按 2% 比例接菌, 30°C, 200rpm 摇菌 24-48h。



**ZOMANBIO**

Order: 010-62617225  
Technical: 010-62979301  
Email: zomanbio@126.com

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

**提示：**

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。
- 感受态细胞应保存在  $-70^{\circ}\text{C}$ ，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。
- 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。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量，本公司生产的 EHA105(pSoup-p19) 化学转化感受态细胞具有四环素抗性，但在转入目标质粒涂板筛选阳性克隆时，只需加入目标质粒抗性的抗生素，不加四环素。
- 平板上阳性克隆密度过大时，由于营养不足，阳性克隆生长变慢，菌落变小，为了获得大的菌落，应减少质粒用量。
- 利福平浓度不应高于  $25\mu\text{g/ml}$ ，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。
- 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，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）。

ZOMANBIO