



EHA101 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC305)

EHA101 :	100μl/支
pK7WGF2 (control vector , 10ng/μl) :	5μl
保存条件(保质期) :	-80℃ (12 个月)

产品介绍

EHA101 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 pEHA101 (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, pEHA101 (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)。pEHA101 (pTiBo542DT-DNA) 型 Ti 质粒含有筛选标签: kan,赋予 EHA101 菌株和卡那霉素抗性,适用于玉米、水稻、烟草等植物的转基因操作。本公司生产的 EHA101 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pK7WGF2 质粒(壮观霉素抗性)检测转化效率 $>10^4$ cfu/μg DNA。

基因型: C58 (rif^R) Ti pEHA101 (pTiBo542 D T-DNA) (kan^R) Nopaline

操作方法

1. 取-80℃保存的农杆菌感受态于室温或手心片刻待其部分融化,处于冰水混合状态时插入冰中。
2. 每 100 μl 感受态加入 1 -5ug 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 700 μl 无抗生素的 LB 或 YEB 液体培养基,于 28℃振荡培养 2~3 小时。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌,留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块涂布于含相应抗生素的 LB 或 YEB 平板上,倒置放于 28℃培养箱培养 2-3 天

注意事项

1. 加入质粒时体积不应大于感受态体积的 1/10,混入质粒时应轻柔操作。
2. 感受态细胞应保存在-80℃,应避免反复冻融,以免降低感受态细胞的转化效率。
3. 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,
4. 经验显示:农杆菌转化效率本身比较低,加入 1ug 质粒,离心全涂约有 1000 个克隆,为了转化成功,建议每次加入最大体积转化感受态。即 10ul 质粒转化 100ul 感受态细胞。
5. 不适用于 Amp,Kan 抗性质粒。