



# EHA101 根癌农杆菌感受态细胞

## EHA101 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1405

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1405	EHA101 根癌农杆菌感受态细胞	10×100μl

备注: 以上包装均含有 pK7WGF2 (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 EHA101 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, 经植物双元 pK7WGF2 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<sup>R</sup>) Ti pEHA101 (pTiBo542 D T-DNA) (kan<sup>R</sup>) Nopaline

### 产品特点:

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。

### 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。
- 利福平浓度不应高于 50μg/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。本公司 EHA101 感受态计算转化效率时所用平板只含有 50μg/ml 壮观霉素, 若所用平板同时含有 20μg/ml rif 则转化效率降低到 1/2。
- 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 Ti 质粒筛选抗生素可防止 Ti 质粒丢失, 但 Ti 质粒筛选抗生素不利于农杆菌的转基因操作, 所以一般培养农杆菌时不考虑这些抗生素, Ti 质粒丢失的概率极低 (可以忽略)。