



EHA105(pSoup) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC308)

EHA105(pSoup) :	100μl/支
pGs2 (control vector , 10ng/μl) :	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (12 个月)

产品介绍

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 即为 EHA105 (pSoup)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) 抗性, 适用于水稻、烟草等植物的转基因操作。本公司生产的 EHA105(pSoup)化学转化感受态细胞经特殊工艺制作, pGs2(卡那霉素抗性)质粒检测转化效率 $>10^3$ cfu/μg DNA。

基因型 : C58 (rif^R) Ti pEHA105 (pTiBo542DT-DNA) Succinamopine (pSoup-tet^R)

操作方法

1. 取-80°C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°C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°C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°C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°C, 应避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
3. 培养基中加入利福平的目的是防止杂菌生长、筛选农杆菌 ;但此感受态利福平浓度不应高于 25μg/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。
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 抗性质粒。
6. 本公司生产的 EHA105(pSoup)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。