



EHA105 (pSoup) 感受态细胞

EHA105(pSoup) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1408

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1408	EHA105 (pSoup) 感受态细胞	10×100μl

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℃ 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 EHA105(pSoup) 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 10^3 cfu/μg DNA。

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

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 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。

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℃ 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℃ 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℃ 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℃ 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℃, 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) 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 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。
- 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)。