

EHA105 化学感受态细胞

■ 产品简介

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)。EHA105 菌株适用于水稻、烟草等植物的转基因操作。本公司生产的 EHA105 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，经 pCAMBIA2301 质粒（Kan^R）检测转化效率≥10⁴ cfu/μg DNA。

■ 产品组成

组分	KW-96301
EHA105 化学感受态	10×100 μL

基因型：C58 (Rif^R) TipEHA105 (pTiBo542DT-DNA) Succinamopine

■ 存储条件

-80℃保存；请勿将本品置于-20℃或者液氮中保存！

■ 使用方法

1. 将感受态细胞从-80℃中取出，在手心或室温片刻使其部分融化，处于冰水混合状态时插入冰中；
2. 每 100 μL 感受态加入 0.01-1 μg 待转化的质粒 DNA(加入质粒 DNA 体积不超过 10 μL)，用手轻轻拨打管底混匀，依次于冰上静置 10 min、液氮 5min (或-70℃干冰乙醇浴 5 min)、37℃水浴 5 min、冰浴 5 min；
3. 加入 900 μL 无抗生素的 YEB 液体培养基，于 28℃振荡培养 2~3 小时。
4. 6000 rpm，1 min 离心收菌，留底部 100 μL 左右菌液轻轻吹打重悬菌块，涂布于含相应抗生素的 YEB 平板上，倒置放于 28℃培养箱培养 2~3 天(当平板只含有 50 μg/mL Kan 时，28℃培养 48 h 即可；平板中同时加入 50 μg/mL Kan，20 μg/mL Rif 时，需 28℃培养 60 h；如果使用的平板含有 50 μg/mL Rif 时，则需要 28℃培养 72~90 h)。

■ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用，禁止反复冻融；
2. 加入的待转化 DNA 的总体积不应超过感受态细胞体积的 1/10；
3. 建议利福平浓度不高于 25 μg/mL，过高浓度的利福平会降低农杆菌的生长速度和转化效率；
4. 由于 Ti 质粒丢失的概率极低(可以忽略)，所以一般培养农杆菌时不考虑添加相应抗生素。