

EHA105 Chemically Competent Cell

■ 目录号

TSC-A03

■ 基因型

C58 (rif^r) Ti pEHA105 (pTiBo542DT-DNA) Succinamopine

■ 产品简介

根癌农杆菌EHA105染色体背景为C58,核基因上含有筛选标签——利福平抗性基因*rif*;该菌株携带的pEHA105(pTiBo542DT-DNA)是一种无自身转运功能的琥珀碱型Ti质粒,质粒上含有的*vir*基因是T-DNA插入植物基因组必需的元件,可以帮助转入的双元载体T-DNA顺利转移;常用于水稻、烟草等植物的转基因操作。本制品经优化的感受态制备工艺制备而成,使用pCAMBIA2301质粒DNA检测,转化效率可达 1×10^6 cfu/ μ g。

■ 产品组成

组分	规格
EHA105 Chemically Competent Cell	100 μ L $\times$ 10 支
*pCAMBIA2301(Control Vector)	10 μ L (10 ng/ μ L)

*阳性对照质粒,用于检测感受态细胞的质量,抗性为Kana。

■ 使用方法

- 1) 将-83~-78℃保存的农杆菌感受态放置于室温或指尖捏住片刻,待其部分融化后插入冰上。
- 2) 加入目的质粒,轻轻混匀依次于冰上静置5 min、液氮5 min、37℃水浴5 min、冰浴5 min。
- 3) 向离心管中加入700 μ L不含抗生素的无菌液体培养基(YEB或LB),混匀后28℃,200 rpm复苏2~3 h。
- 4) 根据实验需要,吸取不同体积的复苏液均匀涂布到含相应抗生素的YEB或LB平板上,将平板倒置放于28℃培养箱培养2~3天。

■ 注意事项

- 实验过程轻柔操作。
- 质粒用量通常为0.01~1 μ g,可通过用量梯度预试验确定合适的质粒用量。
- 质粒不纯或存在乙醇等有机溶剂的污染会影响其转化效率。
- 利福平推荐工作浓度为20~25 μ g/mL,过高的抗生素浓度会影响其生长速率和转化效率。本公司计算感受态转化效率所用的是20 μ g/mL rif和50 μ g/mL kana的YEB平板。

■ 备注

1. EHA105农杆菌抗生素配方

抗生素	配方	储存浓度	工作浓度
利福平 (rif)	DMSO溶解, 0.22 μ m滤膜过滤除菌	20 mg/mL	20 μ g/mL
硫酸卡那霉素 (kana)	双蒸水溶解, 0.22 μ m滤膜过滤除菌	50 mg/mL	50 μ g/mL

2. LB及YEB培养基的配制

1) LB液体培养基 (1 L):

胰蛋白胨 (Tryptone)	10 g
酵母提取物 (Yeast extract)	5 g
NaCl	10 g

2) YEB液体培养基 (1 L):

胰蛋白胨 (Tryptone)	5 g
酵母提取物 (Yeast extract)	1 g
牛肉 (浸) 膏	5 g
蔗糖 (Sucrose)	5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.49 g

根据以上配方,称取相应质量的试剂至合适的仪器中,加入去离子水至1 L,摇晃混匀,使用NaOH溶液调节pH至7.0。如配制固体培养基,则另加入15 g 琼脂粉 (Agar)。配制完成后,115°C高温高压灭菌30 min。

■ 保存条件

-83~-78°C保存,保质期6个月。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:
product@tsingke.com.cn。

