

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:140383-10  
干冰运输, -80℃保存

**TIANDZ**

# EHA105 农杆菌感受态细胞

HEA105 Agrobacterium Competent Cell

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<b>产品及特点</b>	<p>本产品为 EHA105 农杆菌化学感受态细胞, 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 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)。本产品适用于水稻、烟草等植物的转基因操作, 经 pCAMBIA2301 质粒检测转化效率高达 10E3cfu/μg。</p>			
<b>规格及成分</b>		成分	编号	十孔盒包装
		EHA105 农杆菌感受态细胞	140383	10×100 μL
		使用手册	140383sc	1 份
<b>运输及保存</b>	干冰运输, -80℃保存, 有效期一年。			
<b>自备试剂</b>	质粒 DNA、液氮等			
<b>使用方法</b>	<p><b>转化前准备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 冰水浴和 37℃水浴。</li> <li>2. 液氮或干冰/乙醇混合物。</li> <li>3. 将抗性平板在 28℃培养箱中平衡至少 15 分钟。</li> </ol> <p><b>转化方法</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 取-80℃保存的农杆菌感受态细胞于冰水浴中融化。</li> <li>2. 无菌条件下, 向刚刚融化的感受态细胞悬液中加入需要转化的质粒, 每 100 μL 感受态细胞加 1ug 质粒 DNA, 轻柔混匀。冰水浴中静置 10 分钟。</li> <li>3. 将离心管置于液氮中速冻 5 分钟 (注: 也可以用干冰和无水乙醇混合物替代液氮)。</li> <li>4. 迅速将离心管置于 37℃水浴静置中 5 分钟, 不要晃动水面。然后快速转至冰水浴中静置 5 分钟。</li> <li>5. 加入 800 μL 无抗生素的 2×YT 或 LB 液体培养基, 28-30℃振荡培养 2~3 小时。使菌体复苏, 表达抗性。</li> <li>6. 5000rpm 离心 1 分钟收菌, 保留 100 μL 左右上清, 轻轻吹打重悬菌体, 均匀涂布到含有相应抗生素的 LB 固体培养基平板上, 待平板中的液体完全吸收后, 倒置平板, 28-30℃培养 48-72 小时。</li> </ol>			
<b>注意事项</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 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。</li> </ol>			

	<ol style="list-style-type: none"><li>2. 混入质粒时应轻柔操作。转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。</li><li>3. 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。</li><li>4. 利福平浓度不应高于 25 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>，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。</li><li>5. 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)。</li></ol>
<b>关联产品</b>	pCAMBIA2301 质粒 DNA (CAT#:60908-1310)