

克
必
隆
系
列

CAT#:161205-10
干冰运输, -80°C保存

TIANDZ

EHA101 农杆菌感受态细胞

HEA101 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; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>EHA101 菌株为 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胭脂碱型 Ti 质粒 pEHA101 (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。pEHA101 (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。pEHA101 (pTiBo542DT-DNA) 型 Ti 质粒含有筛选标签：kan，赋予 EHA101 菌株卡那霉素抗性,适用于玉米、水稻、烟草等植物的转基因操作。本公司生产的 EHA101 化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pK7WGF2 质粒（壮观霉素抗性）检测转化效率>10⁴cfu/μg DNA。EHA101 农杆菌的基因型是：C58 (rifR) Ti pEHA101 (pTiBo542 D T-DNA)(kanR) Nopaline</p>															
<p>规格及成分</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="555 813 1018 880">成分</th> <th data-bbox="1018 813 1193 880">编号</th> <th data-bbox="1193 813 1409 880">10 支包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="555 880 1018 943">EHA101 农杆菌感受态细胞</td> <td data-bbox="1018 880 1193 943">161205A</td> <td data-bbox="1193 880 1409 943">10×100 μL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="555 943 1018 1005">pKWGF2 (10ng/uL)</td> <td data-bbox="1018 943 1193 1005">161205B</td> <td data-bbox="1193 943 1409 1005">10 μL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="555 1005 1018 1070">使用手册</td> <td colspan="2" data-bbox="1018 1005 1409 1070">1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成分	编号	10 支包装	EHA101 农杆菌感受态细胞	161205A	10×100 μL	pKWGF2 (10ng/uL)	161205B	10 μL	使用手册	1 份	
成分	编号	10 支包装														
EHA101 农杆菌感受态细胞	161205A	10×100 μL														
pKWGF2 (10ng/uL)	161205B	10 μL														
使用手册	1 份															
<p>运输及保存</p>	<p>干冰运输，-80℃保存，有效期一年。</p>															
<p>自备试剂</p>	<p>质粒 DNA、液氮等</p>															
<p>使用方法</p>	<p>转化前准备</p> <ol style="list-style-type: none"> 冰水浴和 37℃水浴。 液氮或干冰/乙醇混合物。 将抗性平板在 28℃培养箱中平衡至少 15 分钟。 <p>转化方法</p> <ol style="list-style-type: none"> 取-80℃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。 每 100μL 感受态加 1μg（体积不大于 10 μL）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。 加入 700μL 无抗生素的 LB 或 YEB 液体培养基，于 28℃振荡培养 2~3 小时。 6000rpm 离心一分钟收菌，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 或 YEB 平板上，倒置放于 28℃培养箱培养 2-3 天（当平板只含有转化所用双元载体抗生素时，28℃培养 48 小时即可；平板中同时加入双元载体抗生素，20 μg/ml rif 时，需 28℃培养 60 小时；如果使 															

用的平板含有 50 µg/ml rif 则需要 28℃培养 72-90 小时)。

注意事项

4. 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。
5. 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。
6. 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。
7. 利福平浓度不应高于 25 µg/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。本公司 EHA101 感受态计算转化效率时所用平板只含有 50 µg/mL kan，若所用平板含有 20 µg/mL rif 则转化效率降低到 1/2。
8. 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，所以一般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)。

关联产品

pCAMBIA2301 质粒 DNA (CAT#:60908-1310)