

EHA101 化学感受态

■ 产品简介

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 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(11876 bp, Spec^R)检测转化效率 $\geq 10^4$ cfu/ μ g DNA。

■ 产品组成

组分	KW-96306
EHA101 化学感受态	10 × 100 μ L

基因型：C58 (Rif^R) Ti pEHA101 (pTiBo542 DT-DNA) (Kan^R) Nopaline

■ 存储条件

-80°C保存；请勿将本品置于-20°C或者液氮中保存！

■ 使用方法

1. 将感受态细胞从-80°C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 μ L 感受态加入 0.01-1 μ g 待转化的质粒 DNA(加入质粒 DNA 体积不超过 10 μ L)，用手轻轻拨打管底混匀，依次于冰上静置 10 min、液氮 5min (或-70°C干冰乙醇浴 5 min)、37°C水浴 5 min、冰浴 5 min；
3. 加入 900 μ L 无抗生素的 YEB 液体培养基，于 28°C振荡培养 2~3 小时。
4. 6000 rpm, 1 min 离心收菌，留底部 100 μ L 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°C培养箱培养 2~3 天(当平板只含有 50 μ g/mL Kan 时，28°C培养 48h 即可；平板中同时加入 50 μ g/mL Kan, 20 μ g/mL Rif 时，需 28°C培养 60 h；如果使用的平板含有 50 μ g/mL Rif 时，则需要 28°C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 μ g/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。