



## EHA105 Chemically Competent Cell

### 产品货号、组分及规格:

Components/Cat	YB1010
EHA105	100ul/支
pCAMBIA2301 (control vector, 10ng/μl)	10ul

### 产品概述:

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)。与其他农杆菌相比，EHA105对利福平敏感度更高，利福平的使用浓度应严格控制在10-20μg/ml之间[1, 2]。EHA105菌株适用于水稻、烟草等植物的转基因操作。EHA105化学转化感受态细胞经特殊工艺制作，pCAMBIA2301质粒(12739bp, Kan<sup>R</sup>)检测转化效率>10<sup>4</sup> cfu/μg DNA。

**基因型:** C58 (rif<sup>R</sup>) Ti pEHA105 (pTiBo542DT-DNA) Succinamopine

**产品应用:** 本产品适用于水稻、烟草等植物的转基因操作

**产品储存:** -80℃保存六个月

### 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5min、液氮5min、37℃水浴5min、冰浴5min；
- 3.向离心管中加入700μL不含抗生素的无菌液体培养基（YEB或LB），混匀后28℃，200rpm复苏2~3h；
- 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:

- 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；
- 2.利福平推荐工作浓度为20~25μg/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20μg/mL rif和50μg/mL kana的YEB平板；
- 3.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)。

