

***Efficom* EHA105 Chemically Competent Cell**

目录号

GS2030

基因型

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

产品组成

组分	规格
<i>Efficom</i> EHA105 Chemically Competent Cell	10 × 100 μL
pCAMBIA2301(Control Vector,10 ng/μL)	10 μL

保存条件

-80°C保存 6 个月。

产品简介

Efficom EHA105 Chemically Competent Cell 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 1×10^4 cfu/μg。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。

产品特点

◇ 转化效率高达 1×10^4 cfu/μg。

适用范围

适用于水稻、烟草等植物的转基因操作。

注意事项

1. 本产品具有利福平抗性；
2. 请勿将感受态反复冻融；
3. 加入目的 DNA 时应轻柔操作；
4. 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；
5. 利福平的浓度控制在 20~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间，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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ rif 和 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kana 的 YEB 平板。

使用方法

- 1) 将-80°C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°C水浴 5 min、冰浴 5 min；
- 3) 向离心管中加入700 μL 不含抗生素的无菌培养基（YEB 或 LB），混匀后 28°C，200 rpm 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，将平板倒置放置于 28°C培养箱培养 2~3 天。

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 μm 滤膜过滤除菌	20 mg/mL	20 $\mu\text{g}/\text{mL}$
硫酸卡那霉素 (kana)	双蒸水溶解，0.22 μm 滤膜过滤除菌	50 mg/mL	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$

2. LB 及 YEB 培养基的配制

LB 液体 (1L)：

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

YEB 液体 (1L) :

组分	用量
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

液体培养基配制完成后, NaOH 调 pH 至 7.0 , 若配制固体培养基需加入 15 g 琼脂粉 (Agar) ,115°C 高温高压灭菌 30 min。

常见问题与解决办法

Q1 : 转化后平板不长菌或长菌数较少 ?

A1 :

- 1) 建议检查上游质粒质量、转化温度及时间是否合适 ;
- 2) 感受态细胞失效或效率降低。使用新鲜感受态细胞 , 感受态请勿反复冻融 , 建议使用本产品中附带 pCAMBIA2301 质粒做一组阳性对照实验 ;
- 3) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效 , 抗生素种类、用量是否正确 , 建议重新配制平板重复实验。

Q2 : 转化后平板出现卫星菌落或杂菌 ?

A2 :

- 1) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效 , 用量是否正确 ;
- 2) 培养温度或时间不合适。检查培养箱温度和培养时间 ;
- 3) 存在污染。感受态细胞在操作过程中被污染 , 建议做一组阴性对照实验 (不加 DNA 只转化空感受态于抗性平板) 检查操作过程是否污染了相同抗性的菌株。若存在污染 , 建议更换试剂及耗材 , 可使用核酸清洁剂 (目录号 : ND709) 对实验台面、环境进行清洁。