

## BJ5183-AD-1 感受态细胞

### BJ5183-AD-1 Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2098

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

#### 产品介绍

基 因 型

endA1 sbcBC recBC galK met thi-1 bioT hsdR (Strr) [pAdEasy-1 (Ampr)]

简 要 说 明

BJ5183-AD-1 是携带了腺病毒质粒 pAdeasy-1 的 BJ5183 菌株。BJ5183 菌株

是一种具有较高重组活力的大肠杆菌菌株，是目前腺病毒系统最常用的感受态细胞。BJ5183 菌株含有 sbcBC recBC 双重突变，赋予 BJ5183 细胞较强的重组能力，有利于转入的目的基因与腺病毒骨架质粒的重组。endA1（缺失核酸内切酶）的突变有利于重组 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。BJ5183-AD-1 菌株细胞中已经提前转入了腺病毒质粒 pAdeasy-1[encodes the Adenovirus-5 genome (E1/E3 deleted)], 赋予该菌株氨苄抗性，在病毒质粒构建时，只需转入线性化的目的质粒即可，简化了实验步骤，提高了病毒质粒重组概率。Strr 赋予 BJ5183-AD-1 菌株链霉素抗性。MLBio-BJ5183-AD-1 感受态细胞经特殊工艺制作，pCAMBIA2301 质粒(size:1163bp)检测转化效率 $>1 \times 10^5$  cfu/  $\mu$ g DNA。

## 操作说明

1. BJ5183-AD-1 感受态细胞从  $-80^{\circ}\text{C}$  拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，加入目的质粒（含有目标基因并线性化），并用手拨打 EP 管底轻轻混匀（避免用枪吸打），冰中静置 25 分钟。
2.  $42^{\circ}\text{C}$  水浴热激 45 秒，迅速放回冰中并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700  $\mu\text{l}$  不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后  $37^{\circ}\text{C}$ ，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌，留取 100  $\mu\text{l}$  左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于  $37^{\circ}\text{C}$  培养箱过夜培养。

## 注意事项

- 1.感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
- 2.混入目的 DNA 时应轻柔操作。
- 3.BJ5183-AD-1 菌株的质粒产量不高。腺病毒构建成功后，可选择在其他大肠杆菌菌株中扩繁，纯化质粒。
- 4.BJ5183-AD-1 感受态细胞对温度敏感，应储存在-80℃超低温冰箱，避免温度波动，温度波动会降低感受态转化效率。