



BJ5183-AD-1 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC130)

BJ5183-AD-1 :	100 μ l/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/ μ l):	5 μ l
保存条件(保质期) :	-80 $^{\circ}$ C (6 个月)

产品介绍

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。Str^R 赋予 BJ5183-AD-1 菌株链霉素抗性。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 10⁵ cfu/ μ g DNA。

基因型: *endA1 sbcBC recBC gaK met thi-1 bioT hsdR* (Str^R) [pAdEasy-1 (Amp^R)]

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。

3. 向每个离心管中加入 700 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

4. 根据实验要求, 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 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. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。

3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。

4. 感受态细胞应保存在 -80 $^{\circ}$ C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。

5. 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到低。

6. 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。