

## BJ5183 感受态细胞

### BJ5183 Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2049

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)

简 要 说 明

BJ5183 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质粒{pAdeasy-1[encodes the Adenovirus-5 genome (E1/E3 deleted)]或 pAdeasy-2[encodes the Adenovirus-5 genome (E1/E3/E4 deleted)]}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。Strr 赋予 BJ5183 菌株链霉素抗性。BJ5183 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率 $>5 \times 10^8$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## 操 作 说 明

1. BJ5183 感受态细胞从 -80℃ 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）和腺病毒质粒，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℃ 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  $\mu$ l 不含抗生素的 2YT 或 LB 无菌培养基，混匀后 37℃，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌，留取 100  $\mu$ 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℃ 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 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 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。