

BJ5183 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1075)

BJ5183 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6个月)

● 基因型

endA1 sbcBC recBC galK met thi-1 bioT hsdR (Str^R)

● 产品说明

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。Str^R 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 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>5×10⁸ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. BJ5183 感受态细胞从-80°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) 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°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 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 μl 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°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 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°C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