

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

#### ● 产品规格 (CAT#: DL1076)

BJ5183-AD-1 Competent Cell	100 $\mu$ l /支
pCAMBIA2301 (control vector, 10ng/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l
保存条件 (保质期):	-80 $^{\circ}$ C (6个月)

#### ● 基因型

*endA1 sbcBC recBC galK met thi-1 bioT hsdR* (Str<sup>R</sup>) [pAdEasy-1 (Amp<sup>R</sup>)]

#### ● 产品说明

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。Str<sup>R</sup> 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, Kan<sup>R</sup>)检测转化效率>1 $\times$ 10<sup>5</sup> cfu/ $\mu$ g DNA。

#### ● 操作方法

1. BJ5183-AD-1 感受态细胞从-80 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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  $\mu$ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后 37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收菌，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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C超低温冰箱，避免温度波动，以免感受态转化效率降低。