

### 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<sup>R</sup>)

#### ● 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<sup>R</sup> 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 × 10<sup>8</sup> 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