



## BJ5183-AD-1 感受态细胞

货号: C1560

规格: 20×100μL

保存: -70℃保存, 避免反复冻融。6个月。不适合在液氮中保存。

### 产品简介:

BJ5183-AD-1 菌株携带的 pAdEasy-1 质粒包含了大部分人腺病毒 5 型的基因组序列 (E1/E3 基因缺失), 表达可供 pAdEasy-1 骨架质粒和 pAdEasy 穿梭质粒进行同源重组的所有组分, 产生重组腺病毒质粒。pAdEasy-1 为 33.5kb, 具有氨苄青霉素抗性, 一旦与穿梭载体重组, 其抗性消失。卡那霉素抗性的 pAdTrack-CMV 质粒检测感受态细胞的转化效率大于  $10^3$  cfu/μg。

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

**菌株抗性:** 对卡那霉素敏感, 有链霉素和氨苄青霉素抗性。

**操作方法:** (以下操作均按无菌条件的标准进行)

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后, 加入目的质粒 (含有目的基因并线性化) 到细胞中, 用手指拨打管底, 轻轻混匀;
2. 冰水浴中放置 30 分钟, 不要晃动;
3. 42℃热击 60 秒钟, 不要晃动;
4. 冰水浴中放置 2 分钟, 不要晃动;
5. 加入 500μL 无菌的 SOC 或 LB 培养基;
6. 置于 37℃摇床中, 150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟;
7. 取 50-100μL 菌液涂布在含有抗性的 LB 平板上。待液体吸干后, 倒置平板, 37℃培养 12-16 小时。  
(平板划线分离法: 复苏培养结束后, 12000rpm 离心 30 秒钟, 弃掉上清, 留 100μL 左右的液体, 用 200μL 吸头轻轻吹打散菌块, 取 10μL 重悬的菌液分多点滴在平板上, 倾斜吸头, 用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更多更大的单克隆菌落。)

### 注意事项:

1. 感受态细胞应保存在-70℃, 不可反复冻融, 否则其转化效率将会降低。
2. 实验过程中应严格无菌操作, 防止其它 DNA 或杂菌的污染, 避免为以后的筛选、鉴定带来影响。
3. 转化时, 转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比, 但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。
4. 转化率的计算: 转化率 = 产生菌落的总数/铺板 DNA 总量。
5. 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接产物, 以重新转化, 将损失降到最低。

### 相关产品:

I1020 IPTG 溶液 (50mg/ml)

A1170 氨苄青霉素储存液(100mg/ml)

K1030 Kanamycin (100mg/ml) 卡那霉素

*L1015* *LB* 固体培养基(干粉)  
*L1020* *SOC* 液体培养基(干粉)  
*X1010* *X-gal*(20mg/ml)