



BJ5183-AD-1 感受态细胞

BJ5183-AD-1 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1024

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1024-1	BJ5183-AD-1 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1024-2	BJ5183-AD-1 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pCAMBIA2301M(10ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 BJ5183-AD-1 化学感受态细胞是经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用卡那霉素抗性的 pCAMBIA2301M 质粒 DNA 检测, 转化效率 10^3 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: endA1 sbcBC recBC galK met thi-1 bioT hsdR (Str^R) [pAdEasy-1 (Amp^R)]

产品特点:

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。对卡那霉素敏感, 有链霉素和氨苄青霉素抗性。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。
- **由于此感受态细胞转化效率较低;为了更好的实验效果, 建议至少转入 100ng 以上质粒, 取 1/3 以上复苏后菌液涂板;否则有可能转化失败。**