Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

ZOMANBIO

本产品仅供科研使用.请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本号:2025-11-28

BJ5183 电转感受态细胞
BJ5183 Electroporation Competent Cell
Cat.NO. ZC1023D

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1023D-1	BJ5183 电转感受态细胞	50μl×5
■ ZC1023D-2	BJ5183 电转感受态细胞	50μl×20

备注：以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)5μl（质量控制用）。

储存：-70℃ 保存六个月。

产品介绍：

本公司生产的 BJ5183 电转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 pUC19 质粒 DNA 检测，转化效率达 10^9cfu/μg DNA 以上。

基因型为：endA1 sbcBC recBC galK met thi-1 bioT hsdR (StrR)

产品特点：

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。StrR 赋予 BJ5183 菌株链霉素抗性。

操作方法：

以下操作均按无菌条件的标准进行:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min, 待其沥干水分, 正置 5min, 使乙醇充分挥发, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70℃保存的电击感受态细胞插入冰中 5min, 待其融化, 加入目的 DNA(质粒或连接产物) 并用手拨打离心管底轻轻混匀, 避免产生气泡, 立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μl 0.1ng/μl 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物, 请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH7.5;1mM EDTA) 重悬, DNA 浓度不超过 100ng/μl, 体积不超过 5μl/50μl 感受态。

3. 用 200μl 枪头将感受态 -DNA 混合物快速移到电击杯中, 避免产生气泡, 盖上杯盖。

4. 启动电转仪, 设置参数:C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV(BioRad 电转仪推荐参数);或 C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV(BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser 电转仪推荐参数);也可按所用电转仪推荐的参数操作。将电击杯快速放入电转槽中, 电击完成快速插入冰中。

5. 加入 700μl 不含抗生素的无菌 SOC 或 LB 培养基, 用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后, 转移到 50ml 离心管(BD Falcon 50ml 锥形离心管等), 向离心管中补加 SOC 或 LB 培养基至 5ml。37℃, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200μl 涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板上(因菌量较大, 若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养 13-17h。

注意事项：

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。
3. DNA 加入到细胞中后，立即进行电击操作；电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基，每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 当 DNA 不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
6. 若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍，转化效率下降一个数量级。
7. 对于连接产物转化，最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl，pH7.5；1mM EDTA) 重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 100ng/μl。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率，增加弧光放电的风险。
8. 混入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200μl 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 避免用力过猛，以免剪切力过大损伤细胞膜，降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70℃以下，高于 -70℃超期储存会导致转化效率下降。

ZOMANBIO