



BJ5183-AD-1 感受态细胞

产品信息:

组成	BC114-01
BJ5183-AD-1 Competent cells	20×100µl
pAdTrack-CMV (10ng/µl)	5µl

储存条件: -70℃保存，避免反复冻融。

产品说明:

BJ5183-AD-1菌株携带的pAdEasy-1质粒包含了大部分腺病毒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^R) [pAdEasy-1 (Amp^R)]*

菌株抗性: 对卡那霉素敏感，有链霉素和氨苄青霉素抗性

质粒转化步骤:

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。）

He, T. C., Zhou, S., da Costa, L. T., Yu, J., Kinzler, K. W. et al. (1998) Proc Natl Acad Sci U S A 95(5):2509-14.

BM190318