



BJ5183-AD-1 电转感受态细胞

产品信息:

组成	BC403-01
BJ5183-AD-1 Electrocompetent cells	20×50μl
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电转感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。该菌株携带的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 10^5 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。

操作方法:

1. 电极间距为 0.1cm 的电转杯 (Gene Pulser®/MicroPulser™ electroporation cuvettes) 插入碎冰中，压实冰面，冰中静置 5 分钟，使电转杯充分降温。（电转杯重复使用方法：每次用完后，用大量的自来水冲洗干净去掉菌液和 DNA，用蒸馏水洗 3 遍，将其泡在 75%乙醇中 30 分钟，取出杯子，沥干液体，放在超净台中，使乙醇充分挥发，盖上盖子放干燥地方备用）。
2. 取-70℃保存的感受态细胞插入冰中，待细胞刚化冻后，加入质粒 DNA（洗脱或溶解质粒的溶液中离子不能太高，或用双蒸水稀释），用手指拨打管底轻轻混匀，立即插入冰中，在超净台中用无菌吸头将细胞/DNA 混合物快速转移到电击杯中，避免产生气泡，确保细胞沉到杯底，盖上杯盖，空管保留待用。
3. 启动电转仪，设置电击参数：2.4 kV，200Ω，25 μF(BTX ECM 630或Bio-Rad GenePulser)。用纸巾擦掉电转杯外部的水分，将电转杯放入电转槽中进行电击。完成后，将电转杯插入冰中，加入950μl无抗生素的SOC或LB培养基，并将液体转移到原来保留的感受态空管中，37℃，150-250rpm振荡培养1小时。
4. 取 100-200μl 左右的菌液或稀释后的菌液，涂布于含相应抗生素的 LB 平板上，倒置放于 37℃培养箱培养 12-18 小时。

注意事项:

1. 电转杯必须预冷。
2. 感受态细胞应该在冰水浴中化冻，加入 DNA 后应轻柔混匀，加入 DNA 的体积小于细胞体积的 1/10。
3. 一旦 DNA 加入到细胞中，电击操作应该立即进行。
4. DNA 应该溶解在水或 TE 中，连接酶的存在会降低转化效率，必要时需纯化连接产物。
5. 电击时，电转杯中的气泡、含高浓度盐离子的 DNA 或转化产物会导致电弧现象的发生。
6. 电击完成后应该立刻加上 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。

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.

BM190325