



BL21(AI) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC206)

BL21(AI) :	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (6 个月)

产品介绍

BL21(AI)是大肠杆菌 B/r 型菌株(E.coli B/r)。BL21(AI) 来源于 BL21 菌株, 为 Lon 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺陷型菌株, 这两种酶的缺失有效防止异源蛋白在大肠杆菌体内的降解。在培养基中添加 L-阿拉伯糖可诱导 *araBAD* 启动子下游 T7RNA 聚合酶的表达进而促进目的蛋白的表达。在培养基中添加葡萄糖可抑制 *araBAD* 启动子下游 T7RNA 聚合酶的表达进而抑制目的蛋白的表达。BL21(AI) 感受态细胞适用于任何以 T7 启动子为基础的表达载体, 能够进行高水平的重组蛋白表达。因为菌株能够对体内的 T7 RNA 聚合酶水平进行高效调节, BL21(AI) 感受态细胞能够表达对其他 BL21 细胞有毒性或抑制生长的蛋白。普通重组蛋白在 BL21(AI) 菌株中获得产量和其他 BL21 菌株产量相当; 对大部分毒性蛋白, 在 BL21(AI) 菌株中获得的产量高于 BL21(DE3)pLysS 菌株或 BL21(DE3)菌株。BL21(AI) 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率高达 10^6 cfu/μg DNA。

基因型: *F⁻ ompT hsdS_B(r_B⁻m_B⁻) gal dcm araB::T7RNAP-tetA*

操作方法

1. 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 25 分钟。
注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。
2. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。
3. 向每个离心管中加入 700μl 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。
4. 根据实验要求, 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。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。

2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作，避免用移液枪吹吸。
3. 转化高浓度的质粒时可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 感受态细胞应保存在-80℃，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
5. 诱导时，IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。
6. 为获得需要量的蛋白，最佳诱导时间，温度，IPTG 浓度需实验者优化。
7. Brian Caliendo (Voigt 实验室)报道过 pCP20 质粒比较难于转化到这个感受态细胞中，而 pCP20 转化到其他菌株中都很正常，但是菌体原因未知。
8. 不加葡萄糖，BL21(AI) 细胞的 *araBAD* 启动子下游的本底蛋白表达水平仍然很低，加入葡萄糖后能够进一步的降低本底蛋白的表达水平。
9. 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。

建议选择该菌株进行蛋白表达的条件如下：

1. 使用 T7 启动子载体（高拷贝或者低拷贝都可以）进行蛋白表达。
2. 使用其他 BL21 菌株进行蛋白表达时，观察到明显的细菌生长的抑制作用。
3. 表达一个已知的毒性蛋白。