

BL21(AI)感受态细胞

BL21(AI) Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2020

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

F- ompT hsdSB(rB-mB-) gal dcm araB::T7RNAP-tetA

简 要 说 明

BL21(AI) 感受态细胞是大肠杆菌 B/r 型菌株(E.coli B/r)，BL21(AI) 来源于 BL21

菌株，为膜外蛋白酶 OMPT 的缺陷型菌株。该酶的缺失能够有效防止表达的异源目的蛋白在细菌体内的降解。使用 L-阿拉伯糖诱导 araBAD 启动子下游的蛋白表达。使用葡萄糖可以抑制 araBAD 启动子下游的蛋白表达。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。因为菌株体内的 T7 RNA 聚合酶水平能够有效调节，BL21(AI) 感受态细胞能够有效表达对其他 BL21 细胞有毒或生长抑制的蛋白。从 BL21(AI) 菌株中获得目的重组蛋白产量，和其他 BL21 菌株产量相当。MLBioHigh5™ 系列 BL21(AI) 感受态细胞由特殊工艺制作经 pUC19 质粒检测转化效率高达 108cfu/μg。

操作说明

1. 取 100μl 冰上融化的 BL21(AI) 感受态细胞，加入目的质粒并轻轻混匀，冰上静置 25 分钟。
2. 42℃ 水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700μl 不含抗生素的无菌培养基(2YT 或 LB)，混匀后 37℃，200rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000rpm 离心一分钟收菌，留取 100μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37℃ 培养箱过夜培养。

注意：

1. 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。

2. 即使不加葡萄糖，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。

注 意 事 项

1. MLBio 感受态细胞最好在冰上融化。
2. 混入质粒时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 诱导时，IPTG 浓度可选(0.1-2mM 均可)。
5. 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。

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 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。

