



# BL21(AI) 感受态细胞

## BL21(AI) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1206

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1206-1	BL21(AI) 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1206-2	BL21(AI) 感受态细胞	20×100μl

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°C 保存六个月。

### 产品介绍:

本公司生产的 BL21(AI) 感受态细胞是采用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 质粒检测, 转化效率高达  $10^7$  cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F ompT hsdS<sub>B</sub>(r<sub>B</sub>m<sub>B</sub>) gal dcm araB::T7RNAP-tetA

### 产品特点:

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。

### 操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**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 30 分钟。  
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 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。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 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。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。



- 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
- 诱导时，IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。
- 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。
- 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。
- 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。

### Sample Induction Protocol (for reference only)

1. Pick 3-4 transformants for overnight culture in 5mL LB medium containing antibiotic to select for your expression plasmid. Grow overnight at 37°C with shaking until the OD<sub>600</sub> reaches 0.6-1.0.
2. Use the overnight cultures to inoculate fresh LB medium containing antibiotic to an OD<sub>600</sub> of 0.05-0.1 (~1:20 dilution of the overnight culture). This dilution allows the cells to quickly return to logarithmic growth and reach the appropriate cell density. Use a volume appropriate for taking time points, if desired.
3. Use the remainder of each overnight culture to create glycerol stocks. Once you have identified the clone that best expresses your protein, you can use the glycerol stock to perform additional expression experiments.
4. Grow the cultures until they reach mid-log phase (OD<sub>600</sub> ~0.4; 2 to 3hours).
5. Induce the cultures (see below), and culture for an additional 2-3hours. You may also take time points to analyze for optimal expression of your protein.  
For T7 expression vector containing the lacI gene (e.g. Invitrogen's pET vectors), induce by adding L-arabinose to a final concentration of 0.2% AND IPTG to a final concentration of 1mM.  
For T7 expression vector with no lacI gene (e.g. Invitrogen's pCR®T7 vectors), induce by adding L-arabinose to a final concentration of 0.2%. Culture for an additional 2-3hours.
6. Place the culture on ice for 10minutes. Harvest cells by centrifugation at 5,000×g for 10minutes at 4°C.
7. Remove the supernatant and store the cell pellet at -20°C (storage at lower temperatures is also acceptable).

**IPTG** Prepare a 1M solution of IPTG (Isopropyl-β-D-thiogalactoside / thiogalactopyranoside) by dissolving 2.38g of IPTG in dd water and adjust the final volume to 10ml. Filter sterilize before use.

### 注意事项:

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。