

製品コード 9126

研究用

TaKaRa

TaKaRa Competent Cells BL21

説明書

v201609Da

I. 内容

TaKaRa Competent Cells BL21	100 μ l \times 10
pUC19 DNA (0.1 ng/ μ l)	10 μ l
SOC Medium *	1 ml \times 10

* SOC Medium の組成 :	2%	Tryptone
	0.5%	Yeast extract
	10 mM	NaCl
	2.5 mM	KCl
	10 mM	MgSO ₄
	10 mM	MgCl ₂
	20 mM	Glucose

II. 保存

− 80°C

【注意】 保存は − 80°C 以下で行ってください。温度管理が不十分な場合、形質転換効率が低下することがあります。そのような事態が予想される場合は、付属の pUC19 DNA を用いて形質転換効率を確認の上、使用してください。液体窒素では保存しないでください。

III. 特性および用途

大腸菌 BL21 株は、*lon* プロテアーゼ、*ompT* 外膜プロテアーゼを欠損した B 株由来の菌株です。発現タンパク質の安定性の向上が期待できるため、組換えタンパク質の発現に広く用いられます。

TaKaRa Competent Cells BL21 は大腸菌 BL21 株のコンピネントセルで、特にコールドショック発現ベクター pCold™ シリーズ (製品コード 3360 ~ 3364)、pCold TF DNA (製品コード 3365)、pCold ProS2 DNA (製品コード 3371) および pCold GST DNA (製品コード 3372) の発現用として適しています。

なお、本製品の宿主に用いている BL21 株は T7 RNA Polymerase を発現していないため、pET システムなどの T7 プロモーターを利用した発現系には使用できません。また、*recA* 欠損株ではないため、プラスミドの構築や調製などの用途にはお勧めできません。

(注) 本製品はエレクトロポレーションには使用できません。

IV. 使用方法

- (1) TaKaRa Competent Cells BL21 を使用直前に、氷中で融解する。
- (2) 融解したら、穏やかに混和して均一にし、100 μ l のコンピテントセルを 14 ml 丸底チューブ (ファルコン・ラウンドチューブ等) に移す (ボルテックスは用いない)。
- (3) 形質転換する DNA を加える (10 ng 以下が望ましい。液量は 10 μ l 以下とする。)
- (4) 氷中、30 分間放置する。
- (5) 42°C で 45 秒間インキュベートする。
- (6) 氷中 1 ~ 2 分間放置する。
- (7) あらかじめ 37°C に保温しておいた SOC Medium を最終 1 ml になるように加える。
- (8) 37°C で 1 時間振とうする (160 ~ 225 rpm)。
- (9) 薬剤を含む L-broth プレートに適当量まく*。
- (10) 37°C で一晩放置する。

* : プレートにまく液量は直径 9 cm プレートの場合 100 μ l 以下にしてください。

【使用上の注意】

1. 必要本数だけを取り出し、運搬時はドライアイス/エタノールに入れてください。
2. 14 ml 丸底チューブ (BD 社 Code. 352059 または 352057) の他、1.5 ml マイクロチューブを用いても形質転換は可能ですが、効率が若干悪くなることがあります。
3. 100 μ l のコンピテントセルを用いる場合、形質転換に用いる DNA の量を、高純度なもので 10 ng 以下にしないと、効率は悪くなります。
4. スケール (コンピテントセルの量など) を変えたり、他のチューブを使用する場合には、最適の条件を検討する必要があります。(例えば、1.5 ml マイクロチューブを使用するときは、42°C で 60 秒間インキュベートしてください。)
5. 回復培養は、SOC Medium の他、L-broth や ψ b-broth でも構いませんが、若干効率が悪くなることがあります。

< L-broth >

10 g Bacto tryptone、5 g Bacto yeast extract、5 g NaCl/1 L water を 1 N NaOH で pH7.5 前後に調整し、オートクレーブする。

< ψ b-broth >

5 g Bacto yeast extract、20 g Bacto tryptone、5 g MgSO₄·7H₂O/1 L water を 1 N KOH で pH7.5 前後に調整し、オートクレーブする。

6. プレートにまく際に希釈が必要なときは、IV. 使用方法 -(7) で加えた培地で希釈してください。
7. 一度融解したコンピテントセルを再度凍結保存することはお勧めしません。やむを得ず必要な場合は、ドライアイス/エタノール中で凍結させ、- 80°C で保存してください。ただし、形質転換効率は 1 オーダー以上低下する可能性があります。

V. 形質転換効率

IV. 使用方法で 1 ng の pUC19 を用いて本製品 100 μ l を形質転換し、Amp⁺のプレートでコロニーを選別しました。

このとき、> 1 × 10⁶ colonies/ μ g · pUC19 DNA の効率を得ました。

VI. Genotype

E. coli BL21 : F⁻, *ompT*, *hsdS_B* (r_B⁻ m_B⁻), *gal*, *dcm*

VII. 参考文献

Hanahan, D. *J Mol Biol.* (1983) **166**, 557.

VIII. 関連製品

pCold™ Vector Set (製品コード 3360)
pCold™ I DNA (製品コード 3361)
pCold™ II DNA (製品コード 3362)
pCold™ III DNA (製品コード 3363)
pCold™ IV DNA (製品コード 3364)
pCold™ TF DNA (製品コード 3365)
pCold™ ProS2 DNA (製品コード 3371)
pCold™ GST DNA (製品コード 3372)
Chaperone Competent Cells BL21 シリーズ (製品コード 9120 ~ 9125)

IX. 注意

- ・本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ・ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- ・pCold はタカラバイオ株式会社の商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

タカラバイオ株式会社