

## Product Information



商品名:	JetGiga Competent Cell (DH5 $\alpha$ )
商品コード:	DS230
容量:	100 $\mu$ l $\times$ 10
形質転換効率:	$>1 \times 10^9$ CFU/ $\mu$ g (pUC19)
付属試薬:	SOC medium, 1 ml $\times$ 10

本品は研究用試薬です

JetGiga Competent Cell (DH5  $\alpha$ ) は以下の特長を持つクローニング用コンピテントセルです。

- (1)迅速なトランスフォーメーション (6 分間)
- (2)高形質転換効率 ( $>1 \times 10^9$  CFU/ $\mu$ g)
- (3)融解後お好みの容量に分注し、再凍結可能 (図 2) (分注方法については p3 をご覧ください)

本品は大腸菌株 DH5  $\alpha$  (分子生物学実験においてスタンダードな株の一つ) をもとに、当社開発の技術によって製造しています。DH5  $\alpha$  株は  $\phi$ 80/*lacZ*  $\Delta$  M15 の変異を有しており、また *laqIq* 遺伝子を持たないため、X-gal の使用によりブルーホワイトセレクションを行うことができます (IPTG の添加は不要です)。

### 大腸菌株 DH5 $\alpha$ の遺伝子型:

*supE44*,  $\Delta$  *lacU169* ( $\phi$ 80/*lacZ*  $\Delta$  M15), *hsdR17*, *recA1*, *endA1*, *gyrA96*, *thi-1*, *relA1*

### 品質検査:

0.2 ng のスーパーコイル状態の pUC19 プラスミドを用いて、p2 に示す 6 分間形質転換法により形質転換を実施。その後 50  $\mu$ g/ml のアンピシリンを含む LB プレートに塗布し、37°C で一晩インキュベート。得られたコロニー数により形質転換効率は  $1 \times 10^9$  CFU/ $\mu$ g 以上であることを確認しています。

### 保存条件:

-80°C で保管してください。納品から 12 カ月間は形質転換効率の低下はありません。

コンピテントセルは温度の変化によって品質が低下します。納品時にはドライアイス同梱の容器から直接 -80°C の冷凍庫に移してください。

SOC medium は室温または -80°C で保管してください。

### 注意点:

アンピシリン以外の抗菌薬 (カナマイシン、テトラサイクリン等) を使用する場合には、『6 分間形質転換法』では得られるコロニーが少なくなることがあります。

そのため、アンピシリン以外の抗菌薬を使用する場合には作業に\*追加工程を加えてください (詳細については p2 および図 1 をご覧ください)。

## Product Information

### 形質転換:

#### ●ご用意いただくもの

- ・ 抗菌薬を添加したLBプレート
- ・ 氷を入れた容器
- ・ 42°Cウォーターバス
- ・ 滅菌されたスプレッダー
- ・ 37°Cインキュベーター

ブルーホワイトセレクションを行う場合

- ・ 20 mg/ml X-Gal (dimethylformamide (DMF)に溶解)

#### ● 形質転換方法:

- 1) JetGiga Competent Cell (DH5  $\alpha$ )を氷上で融解する(1本のチューブに含まれる量は100  $\mu$ lです)。
- 2) DNA試料\*をコンピテントセルに加え、10回程度チューブを指ではじくようにして\*\*均一に攪拌する。
  - \* DNA試料の液量はコンピテントセルの液量の5%を越えないようにしてください (例えば、100  $\mu$ lのコンピテントセルに対しては5  $\mu$ l以下のDNA試料をご使用ください)。
  - \*\* ボルテックスしないでください。
- 3) 氷上で5分間静置。
- 4) ウォーターバスで42°C、30秒加熱\*。この時、液を混ぜたりチューブを振ったりしないでください。
  - \* 加熱時間はコンピテントセルの液量によって異なります。

液量/チューブ	加熱時間
50 - 100 $\mu$ l	30 秒
<50 $\mu$ l	20 秒

- 5) 室温のチューブラック上で冷却。

**アンピシリンでの選択 → 工程7)**

**アンピシリン以外での選択 → 工程6) (追加工程)**

#### 追加工程:

- 6) コンピテントセルを0.9 mlのSOC(あらかじめ室温もしくは37°Cにしておく)の入った滅菌済み15 mlチューブに移す。これを37°Cで60分間、振とうする。

- 7) コンピテントセルを一部取り、抗菌薬を添加したLBアガープレートに塗布する。

ブルーホワイトセレクションを行う場合は、25  $\mu$ lの20 mg/ml X-GalをあらかじめLBアガープレートに塗布し、30分後にコンピテントセルの塗布を行う。DH5  $\alpha$ は*lacZ*遺伝子を持たないため、IPTGの添加は必要ない。

**本工程においてコンピテントセルを希釈する場合は、SOC, SOB, LB等を使用してください。**

- 8) 37°Cで一晩静置。

## Product Information

### 分注:

JetGiga Competent Cell (DH5  $\alpha$ )は1回凍結融解を行っても、 $1 \times 10^9$  CFU/ $\mu$ g以上の形質転換効率を保ちます(図2)。

分注は下記方法に従って行ってください:

#### ● ご用意いただくもの:

- ・ 滅菌した1.5 mlチューブ
- ・ 滅菌したピペットチップ
- ・ 氷水
- ・ 温度計
- ・ デープフリーザー (−80°C)
- ・ 冷凍庫 (−20°C)

#### ● 分注方法:

**繰り返しの凍結融解は形質転換効率を著しく低下させます。**

**2回以上の凍結融解を行わないでください。**

- 1) 新しいチューブとピペットチップを−20°Cの冷凍庫で冷やしておく。
- 2) 氷水(氷を容器に満たし、その上端まで水を浸す)を準備し、氷水が十分に冷えるまで待つ\*  
\* 0°Cになっていることを温度計で確認してください。
- 3) JetGiga Competent Cell (DH5  $\alpha$ )を氷水中で溶解させる(溶解に必要な時間は100  $\mu$ lのコンピテントセルで**4分程度**)。
- 4) 5分以内\*に、冷やしたチップおよびチューブを用いて分注\*\*を行う。  
\*コンピテントセルは融解後、時間経過とともに形質転換効率が低下します。そのため、できるだけ早く分注を行ってください。  
\*\*分注の容量は>20  $\mu$ l/tubeをお勧めします。これは、<20  $\mu$ l/tubeでは、容量が少なすぎるため、形質転換作業中の42°Cでの加熱時にチューブ内温度のコントロールが難しくなるためです。
- 5) デープフリーザーで凍結する (−80°C)。

## Product Information

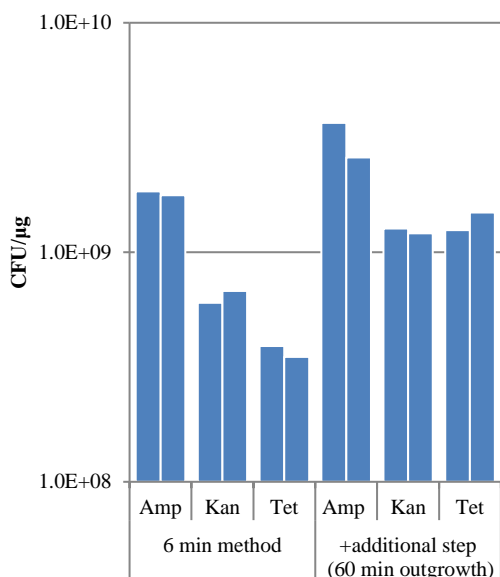


図 1: 種々の抗菌薬を用いた場合の JetGiga Competent Cell (DH5α)の形質転換効率

JetGiga competent cell (DH5α)に対し pBR322 (Ampicillin<sup>R</sup>, Tetracycline<sup>R</sup>)または pACYC177 (Kanamycin<sup>R</sup>)で形質転換を行った。形質転換効率は6分間法および6分間+37°C 60分間 (+追加工程)法で測定した。

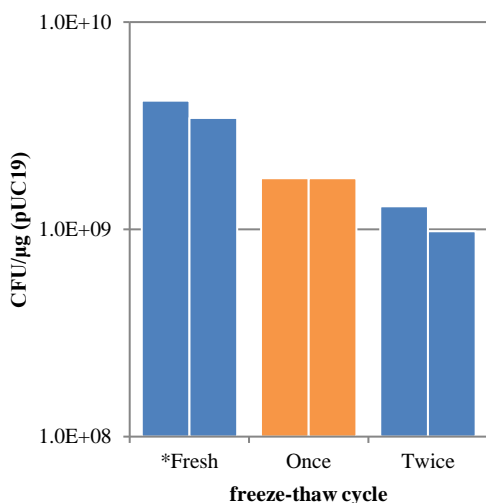


図 2: 繰り返しの凍結融解の形質転換効率への影響

融解した JetGiga Competent Cell を再度ディープフリーザーで凍結した。これらのコンピテントセルに対して6分間法を用いてpUC19プラスミドで形質転換を行った。

\*Fresh: 購入後最初の融解。

### 参考文献:

Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

### 関連製品:

DS210	Competent Cell JM109	DS220	Competent Cell DH5α
DS255	Zip Competent Cell BL21(DE3)	約5分で形質転換操作が終了	