

商品名： DynaCompetent® Cells Jet DH5 α , Large
(旧製品名 Jet Competent Cell (DH5 α), Large)
商品コード： DS225L
容量： DS225 $\times$ 5 (コンピテントセル: 100 μ l $\times$ 50, Recovery Medium: 1 ml $\times$ 50)
形質転換効率： $> 2 \times 10^8$ CFU/ μ g (pUC19)

本品は研究用試薬です

特徴：

DynaCompetent® Cells Jet DH5 α は形質転換操作においてヒートショックとその後の回復培養が不要です。本製品を用いた形質転換操作は約 10 分で完了し、形質転換効率は付属の Recovery Medium を用いて 2×10^8 CFU/ μ g を超えます。DH5 α 株は、分子生物学実験においてスタンダードな株の一つです。 ϕ 80/*lacZ* Δ M15 の変異を有しており、また *lacI*^q 遺伝子を持たないため、X-gal の使用によるブルーホワイトセクションを行うことができます(IPTG の添加は不要です)。

*: Recovery Medium は SOC medium を基に調製されています。

大腸菌株 DH5 α の遺伝子型：

supE44, Δ *lacU169*(ϕ 80/*lacZ* Δ M15), *hsdR17*, *recA1*, *endA1*, *gyrA96*, *thi-1*, *relA1*

品質検査：

スーパーコイル状態の pUC19 プラスミドを用い、P.2 に示す形質転換方法(50 μ g/ml のアンピシリンを含む LB プレート使用)に従って形質転換を行い、本製品の形質転換効率が 2×10^8 CFU/ μ g を超え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。

Recovery Medium は 4°C または −80°C で保管してください。また、Recovery Medium の沈殿は形質転換効率にあまり影響を与えませんが、沈殿を避けるためにはゆっくり凍結することや凍結融解を繰り返すこと(例: −20°C 前後での保管)は行わないでください。

コンピテントセルの取り扱いについて：

- コンピテントセルは衝撃に弱いため過度な混和は避けてください。
- コンピテントセルは氷上で融解した後、徐々に形質転換効率が低下する傾向にありますので、融解後はただちに形質転換操作を開始してください。
- 再凍結したコンピテントセルの使用はお勧めしません。

形質転換手順：

●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
- ・ 滅菌された1.5 mlチューブ
- ・ 滅菌されたスプレッダー
- ・ 37℃インキュベーター

ブルーホワイトセ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) DynaCompetent® Cells Jet DH5 α を氷上で融解します(1本のチューブあたり100 μ l)。
- 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します。
* DNA試料の液量はコンピテントセルの液量の5%を超えないようにしてください (例えば、100 μ lのコンピテントセルに対しては5 μ l以下のDNA試料をご使用ください)。
- 3) 氷上で5分間静置します。
- 4) コンピテントセルを0.9 mlのRecovery Medium(あらかじめ室温もしくは37℃にしておく)が入った滅菌された1.5 mlチューブに移します。これを1秒間ボルテックスし、室温で5分間静置します。
- 5) コンピテントセルを全量または一部取り、抗菌薬を添加したLBプレートに塗布します。
ブルーホワイトセクションを行う場合は、25 μ lの20 mg/ml X-GalをあらかじめLBプレートに塗布し、30分後にコンピテントセルを塗布します。DH5 α は*lacI*^q遺伝子を持たないため、IPTGの添加は不要です。
注意：特にカナマイシンまたはテトラサイクリンでセクションする場合、コンピテントセルを塗布する前に20 mg/ml X-GalはLBプレートに完全に吸収されていることが重要です。また、LBプレートに塗布する前に、コンピテントセルと20 mg/ml X-Galを混ぜないでください。
- 6) 37℃で一晩静置します。

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	DynaCompetent® Cells JM109
DS220	DynaCompetent® Cells DH5 α
DS230	DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α
DS218	DynaCompetent® Cells JM109 for Electroporation
DS228	DynaCompetent® Cells DH5 α for Electroporation