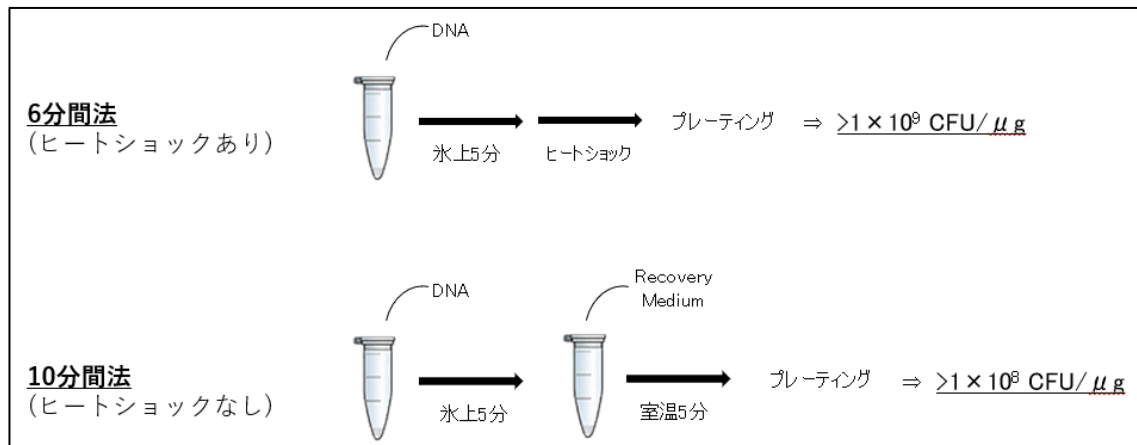


商品名: DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α
 商品番号: DS230
 容量: 100 μ l $\times$ 10
 付属試薬: Recovery Medium, 1 ml $\times$ 10

本品は研究用試薬です

形質転換効率 (pUC19):



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:

0.2 ng の pUC19 プラスミドを用いて、6 分間形質転換法(ヒートショックあり)により 1×10^9 CFU/ μ g 以上であること、10 分間形質転換法(ヒートショックなし)により 1×10^8 CFU/ μ g 以上であることを確認。

保存条件:

コンピテントセル: -80°C (12 カ月)
 Recovery Medium: 4°C または -80°C

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』および『10 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 をご覧ください)。

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

本製品は実験内容に応じて、ヒートショックありの6分間法 ($>1 \times 10^9$ CFU/ μ g)、ヒートショックなしの10分間法 ($>1 \times 10^8$ CFU/ μ g) をお選びいただけます。

①『6分間法』(ヒートショックあり)

- 1) DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α を氷上で融解する(1本のチューブに含まれる量は100 μ 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 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。
- 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 μ l	30 秒
<50 μ 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Recovery Medium(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アガープレートに塗布し、30分後にコンピテントセルを塗布してください。DH5 α は*lacZ*⁻遺伝子を持たないため、IPTGの添加は必要ありません。

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

- 8) 37°Cで一晩静置。

②『10分間法』(ヒートショックなし)

- 1) DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α を氷上で融解する(1本のチューブに含まれる量は100 μ 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 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。
- 4) 付属のRecovery Mediumを0.9 ml添加
- 5) 室温5分静置
アンピシリン以外の薬剤選択をする場合には、ここで37°C、1時間の後培養を行ってください。
- 6) 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 μ 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を塗布してください。DH5 α は *lacZ* 遺伝子を持たないため、IPTGの添加は必要ありません。

分注:

DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α は 1 回 凍結融解を行っても、6 分間法で $>1 \times 10^9$ CFU/ μ g、10 分間法で $>1 \times 10^8$ CFU/ μ g の形質転換効率を保ちます。分注は下記方法に従い行ってください:

● 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
- ・ ディープフリーザー (−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) DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α を氷水中で溶解させる(溶解に必要な時間は 100 μ 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) ディープフリーザーで凍結する (−80°C)。

関連製品:

DS410	DynaCompetent® Cells IS-mutation Safe	IS 変異が入りにくい。ゲノム編集済み大腸菌
DS255	DynaCompetent® Cells Zip BL21(DE3)	約 5 分で形質転換操作が終了