

商品名: DynaCompetent® Cells IS-mutation Safe

(旧商品名: DynaCompetent Cells LowInSeq)

商品番号: DS410

容量: 100 μ l $\times$ 10

形質転換効率: $>1 \times 10^8$ CFU/ μ g (pUC19)

付属試薬: SOC medium, 1 ml $\times$ 10

本品は研究用試薬です

本品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。

大腸菌ゲノム中の DNA 型転移因子(Insertion sequence element, IS)である IS2, IS5, IS10, ISEc63(類似配列)のトランスポゼースに対しゲノム編集を行い、点変異によるストップコドンを導入し、これら転移因子の活性を低下させています。

本品は大腸菌株 DH5 α をもとに、株式会社バイオパレットの“切らないゲノム編集” Target-AID®によって開発されました。

遺伝子型:

recA1, endA1, Δ phoA8, glnX44(AS), hsdR17, ϕ 80dlacZ58(M15), Δ (argF-lac)169

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 に示す形質転換法により形質転換を実施。その後 50 μ 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 1×10^8 CFU/ μ 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:

- 環境由来の微生物や DNA(ゲノム等)のコンタミネーションによってサンプルに活性を有した IS が混入する場合があります。なるべくそれらコンタミネーションの少ない環境での本品の使用を推奨します。
- アンピシリン、カナマイシン以外の抗菌薬(テトラサイクリン等)を使用した場合、得られるコロニーが少なくなることがあります。
- blue-white screening への使用も可能ですが、一般的に blue-white screening が可能な大腸菌株よりもコロニーの発色(青)が弱い場合があるため、推奨されません。blue-white screening に使用する場合は擬陽性(偽陰性)が出る可能性があることをご了承ください。
- ご自身で増殖・コンピテントセル化すると菌体の性質が変わる可能性があります。
- DH5 α 株に比べて増殖速度がやや遅いため、一晩の培養では得られるプラスミドの量が少なくなることがあります。この場合、十分に菌体を増殖させるため、培養時間を 24 時間程度に伸ばす、または液体培地への植菌量を増やすことによって得られるプラスミド量が増えることがあります。
- 転移因子の活性は低下していますが、転移がなされないことを保証するものではありません。

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℃ウォーターバス
- ・ 滅菌されたスプレッダー
- ・ 37℃インキュベーター

● 形質転換方法:

- 1) 本品を氷上で融解する*。
*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 (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)。
** 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℃、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。
- 5) 氷上で冷却。
- 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℃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℃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*。
*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℃で一晩静置*。
*コロニーが小さい場合は20時間程度培養してください。

関連製品:

DS255	DynaCompetent® Cells Zip BL21(DE3)	約 5 分で形質転換操作が終了
DS260	DynaCompetent® Cells BL21(DE3) pLysS	

本製品は株式会社バイオパレットの特許技術を用いて作製されました。

本製品は研究目的にのみ使用が許可されています。商業目的での使用にあたっては弊社までお問い合わせください。また、本製品を許可無く改変したり、転売することは禁止されています。