

- *E.coli* Competent Cell Kit-

Competent high DH5 α

(Code No. DNA-903)

取扱説明書



ご注意

本製品を液体窒素中で保管する場合は、液体窒素から取り出す際以下の点にご注意ください。

保管中、チューブ内に液体窒素が入っていることがあります。

いきなり室温に戻すと入った液体窒素が急激に気化し、チューブが破裂する恐れがあります。

これを避けるために以下の手順に従って液体窒素から取り出してください。

1. 液体窒素及びドライアイスを取り扱うときは保護めがね、保護手袋等の保護具を着用ください。
2. 液体窒素中から本製品をドライアイスの入った容器に移し、約1分おいてください。

次に氷上に移し、約1分おいた後、ご使用ください。

(長期保管する場合は、気相液窒缶中に保管することをお勧めいたします。)

(1) キットの内容

| | |
|------------------------------|--------------------------|
| Competent Cell | 100 μ l \times 10本 |
| pBR 322 DNA (1 pg / μ l) | 50 μ l \times 1本 |
| SOC medium | 1 ml \times 10本 |

(2) 品質

形質転換効率 1 pgのpBR 322 で形質転換した場合
 1×10^9 transformants/ μ g \cdot pBR 322 (液体窒素保存)
* -80°C 保存では 10^8 オーダーになります。

(3) 保存方法

-80°C , 液体窒素

※長期保管する場合は、気相液窒素中に保管することをお勧めいたします。

(4) Genotype

F $^-$ ϕ 80 d lac Z Δ M 15 Δ (lacZYA - arg F) U 169 deo R rec A 1 end A 1
hsd R 17 (r_K $^-$, m_K $^+$) sup E 44 λ^- thi- 1 gyr A 96 rel A 1.

(5) 形質転換方法

①Competent Cellを融解し、Falconチューブ(2059)に100 μ l 移す。

②形質転換するDNAを加える。

③氷中に30分間放置する。

④ 42°C のヒートショックを30秒間行う。

⑤氷中で2分間冷却する。

⑥SOC mediumを900 μ l 加え、 37°C で1時間振とう培養する。

⑦適当な選択培地に適量まく。

⑧ 37°C で一晩培養する。

| | | |
|------------|-------|---------------------|
| SOC medium | 2% | Bacto tryptone |
| | 0.5% | Bacto yeast extract |
| | 10mM | NaCl |
| | 2.5mM | KCl |

上記組成の培地をオートクレーブ滅菌後、フィルターろ過した Mg^{2+} ストック溶液と、別殺菌したグルコースストック溶液を、下の濃度になるよう加えている。

| | |
|------|---|
| 20mM | MgSO_4 , MgCl_2 (10mM each) |
| 20mM | Glucose |

(6) 参考文献

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

(7) 形質転換に関する事項

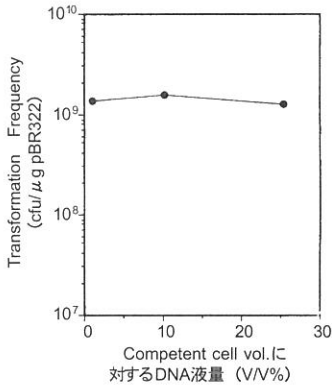
① DNAおよびコンピテントセル量について

- (1) 加えるDNAの液量がコンピテントセル容量の25%まで効率に大きな影響はない。(Fig. 1)
- (2) DNAを10 ng 以上用いると、1 μ g DNAあたりのトランスフォーマント数は減少する。(Fig. 2)

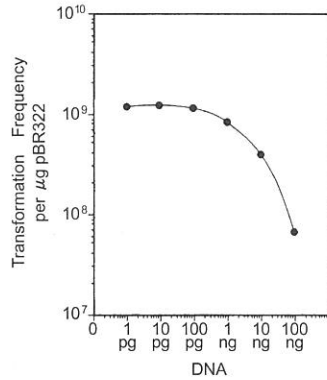
② ヒートショックについて

- (1) 42°Cでヒートショックを行った場合、ヒート時間は90秒まで大きな差はないが、15~60秒が適当といわれている。(Fig. 3)
- (2) また、30秒間のヒートを行った場合、37°C~57°Cまで大きな差はみられなかったが、42°Cが標準的といわれている。(Fig. 4)

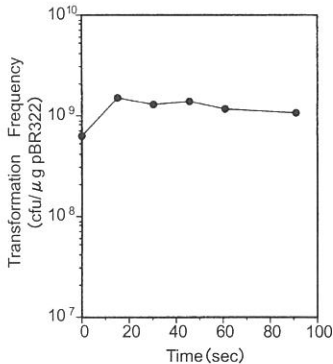
(Fig. 1)



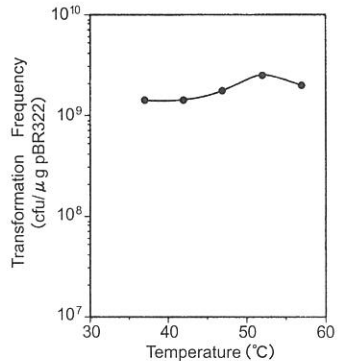
(Fig. 2)



(Fig. 3)



(Fig. 4)





【製造・販売元】

—納期・注文に関するお問い合わせ—

東洋紡株式会社 ライフサイエンス事業部（大阪）
〒530-8230 大阪市北区堂島浜二丁目2番8号
TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社 ライフサイエンス事業部（東京）
〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目17番10号 住友商事京橋ビル
TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

—製品の内容・技術に関するお問い合わせ—

テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00～12:00, 13:00～17:00（土、日、祝を除く）
E-mail : tech_osaka@toyobo.jp
[URL] <http://www.toyobo.co.jp/bio>