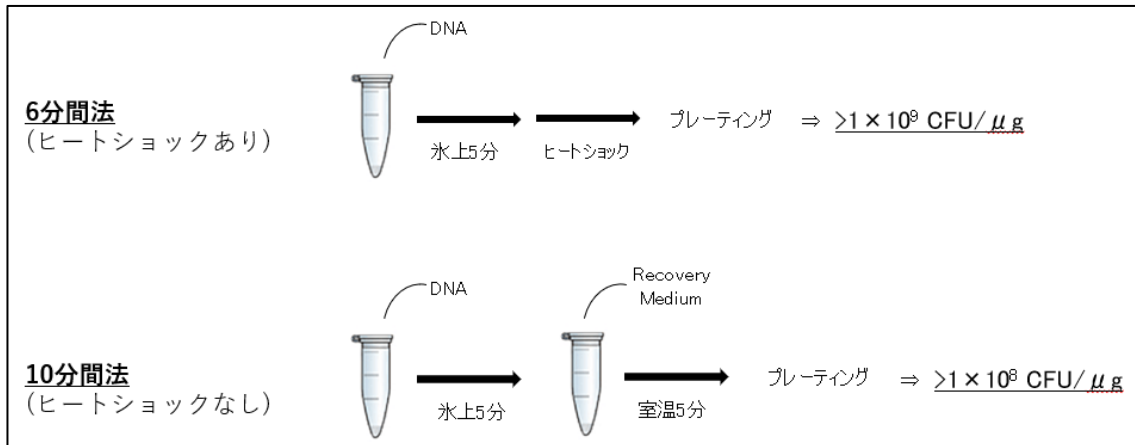


商品名: DynaCompetent® Cells JetGiga DH5  $\alpha$   
 商品番号: DS230  
 容量: 100  $\mu$ l  $\times$  10  
 付属試薬: Recovery Medium, 1 ml  $\times$  10

本品は研究用試薬です

### 形質転換効率 (pUC19):



### 大腸菌株 DH5 $\alpha$ 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 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  $1 \times 10^9$  CFU/ $\mu$ 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  $1 \times 10^8$  CFU/ $\mu$ g 以上であることを確認。

### 保存条件:

コンピテントセル:  $-80^\circ\text{C}$  (12 カ月)  
 Recovery Medium:  $4^\circ\text{C}$  または  $-80^\circ\text{C}$

### 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ター
  - ・ 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

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/ $\mu$ g)、ヒートショックなしの10分間法 ( $>1 \times 10^8$  CFU/ $\mu$ 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  $\alpha$  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)。
- 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を塗布してください。DH5  $\alpha$  は *lacA* 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  $\alpha$  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)。
- 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  $\mu$ 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を塗布してください。DH5  $\alpha$  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  $\alpha$  は 1 回 凍結融解を行っても、6 分間法で  $>1 \times 10^9$  CFU/ $\mu$ g、10 分間法で  $>1 \times 10^8$  CFU/ $\mu$ 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  $\alpha$  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