

商品名 : DynaCompetent® Cells DH5 α
 (旧製品名 Competent Cell DH5 α)
商品コード : DS220
容量 : 100 μ l \times 10
形質転換効率 : $> 5 \times 10^8$ cfu/ μ g (pUC19)
付属試薬 : SOC medium, 1 ml \times 10 本品は研究用試薬です

特徴 :

DynaCompetent® Cells DH5 α は大腸菌株 DH5 α (分子生物学実験においてスタンダードな株の一つ) に由来する高効率のケミカルコンピテントセルで、さまざまなクローニング実験に使用できます。DH5 α 株は 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レクションを行うことができます(IPTG の添加は不要です)。

大腸菌株 DH5 α の遺伝子型 :

supE44, \Delta lacU169(\phi 80/lacZ\Delta 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 5×10^8 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。

SOC medium は室温または−80°C で保管してください。

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。

付属しているSOC mediumの組成 :

20 g/L	tryptone
5 g/L	yeast extract
0.5 g/L	NaCl
0.186 g/L	KCl
2.4 g/L	MgSO ₄ , anhydrous
4 g/L	glucose

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15 mlチューブ
 - ・ 42°Cウォーターバス
 - ・ 37°C振盪機
 - ・ 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

- 1) DynaCompetent® Cells DH5 α を氷上で融解します(1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20分間静置します。
- 4) ウォーターバスで42°C、45秒インキュベートします。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2分間静置します。
- 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°Cにしておく)の入った滅菌された15 mlチューブに移し、37°C振盪機で60分間、振盪します。
- 7) コンピテントセルを一部取り、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。
- 8) 37°Cインキュベーターで一晩静置します。

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:

DS230	DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α
DS210	DynaCompetent® Cells JM109
DS218	DynaCompetent® Cells JM109 for Electroporation
DS228	DynaCompetent® Cells DH5 α for Electroporation