
***ECOS*TM Competent *E.coli* DH5 α , JM109, XL1-Blue, BL21(DE3)**

Manual (ver. 11)

<i>ECOS</i> TM Competent <i>E.coli</i> DH5 α	Code No. 310-06231	100 μ l \times 2 本
	Code No. 316-06233	100 μ l \times 20 本
	Code No. 314-06234	100 μ l \times 80 本
<i>ECOS</i> TM Competent <i>E.coli</i> JM109	Code No. 317-06241	100 μ l \times 2 本
	Code No. 313-06243	100 μ l \times 20 本
	Code No. 311-06244	100 μ l \times 80 本
<i>ECOS</i> TM Competent <i>E.coli</i> XL1-Blue	Code No. 311-06521	100 μ l \times 2 本
	Code No. 317-06523	100 μ l \times 10 本
	Code No. 315-06524	100 μ l \times 20 本
<i>ECOS</i> TM Competent <i>E.coli</i> BL21(DE3)	Code No. 318-06531	100 μ l \times 2 本
	Code No. 314-06533	100 μ l \times 10 本
	Code No. 312-06534	100 μ l \times 20 本

NIPPON GENE CO., LTD.

I 製品説明

本品は大腸菌 DH5 α 、JM109、XL1-Blue、BL21(DE3) のコンピテントセルであり、短時間で高効率な形質転換を行うことができる画期的な製品です。

これまでのコンピテントセルでは、熱処理後に SOC 培地や Hi-Competence Broth (Code No.319-01343) を添加し、約 1 時間の培養を行ってから LB プレート上で一晩培養することが一般的であり、形質転換には実質 1.5~2 時間程度必要となっていました。

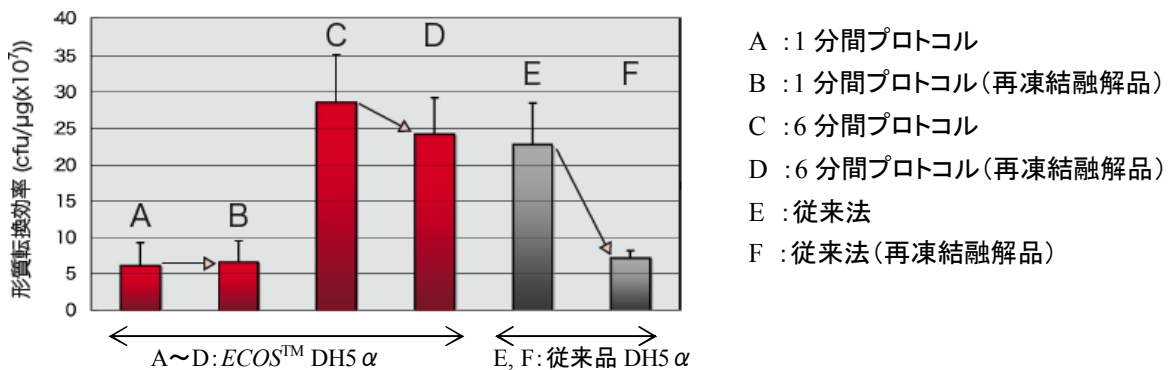
しかしながら、本品では SOC 培地や Hi-Competence Broth での培養を行う必要がなく、熱処理後、そのまま LB プレートへ移して培養することができ、形質転換は実質数分間で終了します。

また、本品は長期間高い形質転換効率を保ったまま保存できることや、1 度凍結融解(再凍結)しても形質転換効率があまり低下しないことなど、従来のコンピテントセルにはなかった特長を持ち合わせています。

特長

- ECOSTM 6 分間プロトコルで高効率形質転換が可能
- ECOSTM 1 分間プロトコルで最高速形質転換が可能
- 凍結融解に対する高い耐性
- 長期保存が可能

従来品との比較(凍結融解の影響)



実験方法: 再凍結融解は、氷上で融解しタッピングで軽く混合したものを -80°C のフリーザーで再凍結し、24 時間後、氷上で再融解した後に形質転換を行った。

結果: ECOSTM Competent *E.coli* DH5 α では再凍結融解前の 85%以上の形質転換効率を維持していたが、従来品は 30%まで形質転換効率が低下した。

II 各菌株の遺伝子型

DH5 α	F^- , $\Phi 80dlacZ \Delta M15$, $\Delta (lacZYA-argF) U169$, $hsdR17 (r_k^- m_k^+)$, $recA1$, $endA1$, $relA1$, $deoR$, $supE44$, $thi-1$, $gyrA96$, λ^-
JM109	F' [$traD36$, $proAB$, $lacIq$, $lacZ \Delta M15$], $\Delta (lac-proAB)$, $hsdR17 (r_k^- m_k^+)$, $recA1$, $endA1$, $relA1$, $supE44$, $thi-1$, $gyrA96$, $e14^-(mcrA^-)$
XL1-Blue	$hsdR17$, $recA1$, $endA1$, $gyrA96$, $thi-1$, $supE44$, $relA1$, $lac[F', proAB LacI^qZ \Delta M15, Tn10(Tet^r)]$
BL21 (DE3)	<i>E.coli</i> B, F^- , dcm , $ompT$, $hsdS (r_B^- m_B^-)$, gal , λ (DE3)

III 形質転換効率

DH5 α 、JM109、XL1-Blue

$\geq 1 \times 10^7$ (cfu/ μ g pUC19 DNA)

BL21 (DE3)

$\geq 1 \times 10^6$ (cfu/ μ g pUC19 DNA)

本製品の性能として表示している形質転換効率は、「ECOS™ 1 分間プロトコル」を以下に示す所定の条件で実施した場合のものとなります。

- コンピテントセルを室温のウォーターバスで約 1/3 量を融解して DNA 溶液を添加する。
- 形質転換には pUC19 DNA を使用する。
- 操作は全て室温で連続的に行う。
- アンピシリンは 50 μ g/ml で使用する
- LB プレートは 4°C のものを使用する。

「ECOS™ 1 分間プロトコル」の詳細については 5 ページの「VII ECOS™ 1 分間プロトコル」をご参照下さい。

IV 保存と凍結融解(再凍結)について

−80℃で保存して下さい

温度変化の少ない条件下であれば長期間安定して保存することができます。長期保存による形質転換効率低下の目安は、1年間で約1/2に低下する程度です。

また、一度の凍結融解(再凍結)では形質転換効率はあまり低下しませんが、凍結融解の繰り返しは形質転換効率の大幅な低下の原因となりますので避けて下さい。凍結融解(再凍結)を行う場合は、融解、操作は氷上で素早く行い、−80℃で再凍結して下さい。

ただし、これらの内容については製品の性能として保証するものではありませんので、ご了承下さい。

V 使用上の注意

- 本品は試験研究用ですので、医薬品、その他の目的にはご使用になれません。また、試薬についての基本的な知識のある方以外は取り扱わないで下さい。
- 本品のお取扱いはマニュアル記載内容通りに行ってください。
- マニュアル記載内容と異なったお取り扱いによるトラブルにつきましては、弊社では責任を負いかねます。
- 本品に関連する技術については、現在特許出願中です。
- BL21 (DE3)株は T7 Gene Expression System 関連製品であり、T7 Gene Expression System については Brookhaven National Laboratory が米国特許を有しております。

T7 Gene Expression System 関連製品およびこれを利用して製造した製品を国外に持ち出すことを想定している場合には、Brookhaven National Laboratory とライセンスを締結する必要があります。

ライセンス締結については下記に直接お問い合わせ下さい。

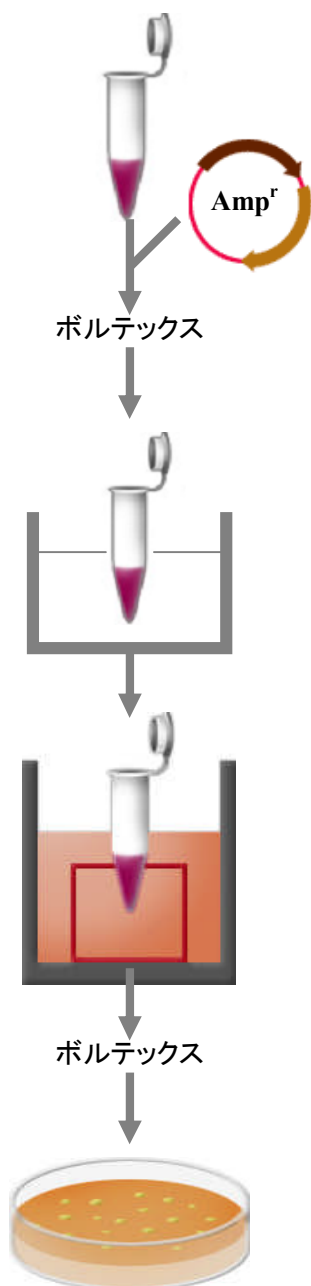
担当者 Christine Brakel
電話 +1-631-344-7134
Fax +1-631-344-3729
Email brakel@bnl.gov

本製品を日本国内のみで研究用途にご使用いただく場合にはライセンス締結の必要はありません。

VI ECOS™ 6 分間プロトコル(高効率迅速形質転換法)

「ECOS™ 6 分間プロトコル」は、大腸菌の形質転換を高効率(「ECOS™ 1 分間プロトコル」の 2~3 倍)に、短時間(6 分間)で行うことができる、最も優れたプロトコルとなります。

特に、6kbp 以上の大きなプラスミドを使用する場合には必ず本プロトコルで形質転換を行ってください。「ECOS™ 1 分間プロトコル」では形質転換効率が低下する場合があります。

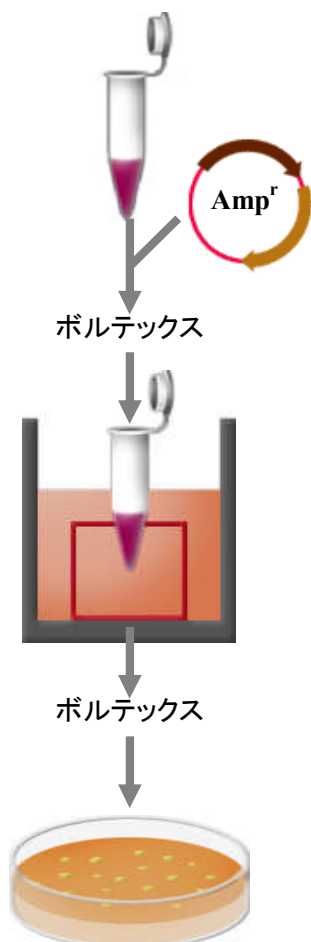


- 氷上でコンピテントセルを融解する(*1)。
- 直ちに、4℃または氷上で冷却したプラスミド溶液またはライゲーション溶液を添加する(*2)。
- 直ちにボルテックスで1秒間攪拌する(*3)。
- 氷上で5分間インキュベートする。
- 直ちに42℃で45秒間インキュベートする。
- 直ちにボルテックスで1秒間攪拌する(*3)。
- 直ちに全量をLBプレートに移し均一に塗布する(*4)。
- 37℃で12~16時間インキュベートする。

VII ECOS™ 1 分間プロトコル(最速形質転換法)

「ECOS™ 1 分間プロトコル」は、最も時間と手間がかからないプロトコルとなります。1 チューブずつの操作であれば、氷上での操作も必要ありません。42℃のウォーターバスとボルテックスがあれば、素早く簡単に約 1 分間で形質転換を行うことができます。

複数本を同時に形質転換に用いる場合など、各操作を直ちに連続操作で進めることができない場合には、全ての操作を氷上で行うことで、安定した形質転換効率を得ることができます。



- 氷上でコンピテントセルを融解する(*1)。
- 直ちに、4℃または氷上で冷却したプラスミド溶液またはライゲーション溶液を添加する(*2)。
- 直ちにボルテックスで 1 秒間攪拌する(*3)。
- 直ちに 42℃で 45 秒間インキュベートする。
- 直ちにボルテックスで 1 秒間攪拌する(*3)。
- 直ちに全量をプレートに移し均一に塗布する(*4)。
- 37℃で 12~16 時間インキュベートする。

(* 1)

水道水や室温のウォーターバスでコンピテントセルを素早く融解することも可能です。その場合は、約 1/3 量を融解した時点で DNA を添加して下さい。完全に融解させた場合には形質転換効率が約 1/3 に低下することがあります。

(* 2)

添加する DNA 溶液の量はコンピテントセルの容量の 5%以下にして下さい。5%以上の DNA 溶液を添加した場合には、形質転換効率が低下することがあります。

(* 3)

1 秒間のボルテックスは形質転換効率に悪影響を与えません。ECOS™ Competent *E.coli* はボルテックスに耐えられるように調製されています。

(* 4)

LB プレートは 4℃のものを使用することが出来ます。また、セクションに使用する薬剤は以下の濃度でを使用することをお勧めします。

アンピシリン : 50 μ g/ml

カナマイシン : 25 μ g/ml

テトラサイクリン : 12.5 μ g/ml

薬剤濃度が高すぎる場合には、形質転換効率が低下する場合があります。また薬剤濃度が低すぎる場合には、サテライトコロニー数が増加する場合があります。

VIII プロトコルに関する注意

「ECOS™ 1 分間プロトコル」および「ECOS™ 6 分間プロトコル」は、薬剤にアンピシリンを使用する場合にのみ有効です。

薬剤耐性機構の違いにより、薬剤にカナマイシンやテトラサイクリンを使用する場合には形質転換効率が低下しますので、熱処理後に SOC 培地または Hi-Competence Broth (Code No.319-01343)を加え、37℃で約 30 分間インキュベートしてから全量をプレートに移して下さい。

IX 関連製品

Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格(円)
315-05963	Ligation-Convenience Kit (2×Ligation Mix)	10 回分	3,200
319-05961	Ligation-Convenience Kit (2×Ligation Mix)	100 回分	20,000

Ligation-Convenience Kit は DNA のライゲーションを迅速、簡便に行うためのキットで、ライゲーションは 5 分間で終了します。よって、ECOS™ Competent *E.coli* と組み合わせて使用することで、ライゲーション～形質転換を約 10 分間で行うことができます。

315-06541	TA-Blunt Ligation Kit	5 回分	3,200
311-06543	TA-Blunt Ligation Kit	50 回分	22,000
318-06293	Blunting-Convenience Kit	5 回分	5,600
312-06291	Blunting-Convenience Kit	25 回分	20,000
314-06251	Bac' n' Roll Beads	100 回分	4,400
319-01343	Hi-Competence Broth	1 ml ×20	18,000
311-00404	T4 DNA Ligase	50,000 units	9,000
317-00406	T4 DNA Ligase	50,000 units ×5	36,000
310-01471	Ligation Pack	100 回分	10,000
318-01531	Bacterial Alkaline Phosphatase(<i>E.coli</i> A19)	20 units	20,000
310-01591	Bacterial Alkaline Phosphatase(<i>E.coli</i> C75)	60 units	10,000
316-01593	Bacterial Alkaline Phosphatase(<i>E.coli</i> C75)	60 units ×5	40,000
319-02661	Alkaline Phosphatase(Calf intestine)	1,000 units	10,000
319-00444	pBR322 DNA	15 μg	9,000
315-00446	pBR322 DNA	15 μg ×5	36,000
314-00994	pUC18 DNA	15 μg	9,000
310-00996	pUC18 DNA	15 μg ×5	36,000
311-01004	pUC19 DNA	15 μg	9,000
317-01006	pUC19 DNA	15 μg ×5	36,000
312-01791	Ethachinmate	0.2 ml	15,000

株式会社ニッポンジーン

研究試薬部 学術営業課

〒930-0834 富山市問屋町 1-8-7

TEL (076)451-6548

FAX (076)451-6547

Email info@nippongene.com

URL <http://www.nippongene.com/>