

製品コード 9027

研究用

---

**TaKaRa**

***E. coli* DH5  $\alpha$  Electro-Cells**

---

説明書

v201610Da

## I. 内容

|   |                        |
|---|------------------------|
| <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ Electro-Cells | 50 $\mu$ l $\times$ 10 |
| pUC19 DNA (10 pg/ $\mu$ l)                | 10 $\mu$ l             |
| SOC Medium*                               | 1 ml $\times$ 10       |

|                    |                         |
|--------------------|-------------------------|
| * SOC Medium の組成 : | 2% Tryptone             |
|                    | 0.5% Yeast extract      |
|                    | 10 mM NaCl              |
|                    | 2.5 mM KCl              |
|                    | 10 mM MgSO <sub>4</sub> |
|                    | 10 mM MgCl <sub>2</sub> |
|                    | 20 mM Glucose           |

## II. 保存

− 80℃

【注意】 保存は− 80℃以下で行ってください。温度管理が不十分な場合、形質転換効率が低下することがあります。そのような事態が予想される場合は、付属の pUC19 DNA を用いて形質転換効率を確認の上、使用してください。  
液体窒素では保存しないでください。

## III. 特性および用途

Electro-Cells は、エレクトロレーション法のために調製した宿主菌です。この方法は高電圧パルスで細胞膜を破断することにより DNA を細胞内に移入するもので、形質転換効率および結果の再現性に優れており、少量のサンプルを短時間で大腸菌に導入する際、特に威力を発揮します。

pUC 系プラスミドを使用して遺伝子ライブラリーの作製、サブクローニングを行う場合、本宿主菌と組合せると、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの $\alpha$ -相補性を利用して X-Gal 添加による青白選択を行うことができ、組換え体の選別が容易となります。

X-Gal : 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- $\beta$ -D-Galactoside

## IV. 使用方法 (プラスミドベクターで形質転換する場合)

- (1) *E. coli* DH5 $\alpha$  Electro-Cells (50  $\mu$ l) を使用直前に、氷中で融解する。
- (2) 融解した Electro-Cells に 1 ~ 2  $\mu$ l の DNA 溶液を加える。(塩が含まれる試料溶液の場合には TE または滅菌水で希釈したものを用いるか、エタノール沈殿による脱塩を行うとよい。DNA Ligation Kit、DNA Blunting Kit のライゲーション反応液を使用する場合、エタノール沈殿してから用いる。)
- (3) Electro-Cells および DNA の混合液をあらかじめ氷冷しておいた 0.1 cm キュベットに注入する。
- (4) パルス\*<sup>1</sup> をかけた後、直ちに、融解後氷冷しておいた 1 ml の SOC Medium を加える。
- (5) 14 ml 丸底チューブ (ファルコンチューブ等) に移し、37℃で 1 時間振とうする (160 ~ 225 rpm)。
- (6) プレートに適量まく。\*<sup>2</sup>
- (7) 37℃で一晩培養する。

\* 1 : タカラバイオでは BIO-RAD 社製の MicroPulser を使い、1.5 kV の電圧条件でパルスをかけています。BIO-RAD 社製のジーンパルサーの場合には 200  $\Omega$ 、25  $\mu$ F、1.5 kV でのパルスが標準です。

\* 2 : プレートにまく液量は直径 9 cm のプレートの場合 100  $\mu$ l 以下にしてください。

## 【使用上の注意】

1. 必要本数だけを取り出し、運搬時は、ドライアイス／エタノールに入れてください。
2. 形質転換には高純度な DNA を使用することをお勧めします。また、50  $\mu$ l の Electro-Cells に対して、形質転換する DNA の量を 10 ng 以上使用した場合、形質転換体の絶対数は増えますが、効率は低下します。
3. 大きなサイズの DNA (> 7 kb) を導入する場合には形質転換効率の低下が見られます。
4. スケール (Electro-Cells の量など) を変えたり、他のチューブやキュベットを用いたりする場合には、最適の条件を検討する必要があります。
5. 回復培養は、SOC Medium の他、L-broth や  $\psi$ b-broth でも構いませんが、若干効率が悪くなることがあります。また、14 ml 丸底チューブ (BD 社 Code. 352059 または 352057) の他、1.5 ml マイクロ遠心チューブを用いても可能ですが、効率は若干悪くなります。

### < L-broth >

10 g Bacto tryptone、5 g Bacto yeast extract、5 g NaCl/1 L water を 1 N NaOH で pH7.5 前後に調整し、オートクレーブする。

### < $\psi$ b-broth >

20 g Bacto tryptone、5 g Bacto yeast extract、5 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O/1 L water を 1 N KOH で pH7.5 前後に調整し、オートクレーブする。

6. プレートにまく際に希釈が必要な場合は、IV. 使用方法 -(4) で加えた培地で希釈してください。
7. X-Gal を添加する場合は以下の濃度で添加してください。  
・ 20 mg/ml X-Gal (ジメチルホルムアミドに溶解) を調製し、200 ~ 300  $\mu$ l/100 ml 寒天培地で添加する。
8. DH5 $\alpha$  で M13mp ベクターを複製させることはできませんが、この株は F 因子を持たないため、プラークを形成できませんのでご注意ください。
9. 一度融解した Electro-Cells を再度凍結保存することはお勧めしません。やむを得ず行う場合、ドライアイス／エタノール中で凍結させ、- 80°C で保存してください。ただし、形質転換効率は 1 オーダー以上低下する可能性があります。

## V. 形質転換効率

1. 形質転換効率  
IV. 使用方法 (プラスミドベクターで形質転換する場合) の方法により 10 pg の pUC19 プラスミドで形質転換し、100  $\mu$ g/ml のアンピシリンを含むプレートでコロニーを選別しました。  
このとき、 $>1 \times 10^9$  transformants/ $\mu$ g pUC19 プラスミド DNA の効率を得ました。
2.  $\beta$ -ガラクトシダーゼの  $\alpha$ -相補性の確認  
pUC19 DNA を用いて形質転換を行い、100  $\mu$ g/ml のアンピシリン、60  $\mu$ g/ml の X-Gal を含む LB-寒天培地に塗布した場合、青色のコロニーが出現することを確認しています。

## VI. Genotype

*E. coli* DH5 $\alpha$  :  
F<sup>-</sup>,  $\phi$ 80d*lacZ*  $\Delta$  M15,  $\Delta$  (*lacZYA-argF*)U169, *deoR*, *recA1*, *endA1*, *hsdR17*(r<sub>K</sub><sup>-</sup>, m<sub>K</sub><sup>+</sup>), *phoA*, *supE44*,  $\lambda$ <sup>-</sup>, *thi-1*, *gyrA96*, *relA1*

---

VII. Cell density >  $1 \times 10^{10}$  bacteria/ml

### VIII. 参考文献

- 1) Dower, W. J., Miller, J., F. and Ragsdale, C. W. *Nucl Acids Res.* (1988) **16**: 6127.
- 2) Bottger, E. C. *Biotechniques.* (1988) **6**: 878.

### IX. 関連製品

*E. coli* DH5  $\alpha$  Competent Cells (製品コード 9057)  
pUC19 DNA (製品コード 3219)  
X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- $\beta$ -D-Galactoside) (製品コード 9031)

### X. 注意

- ・ 本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- ・ タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ・ ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- ・ 本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

**テクニカルサポートライン**

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

---

**タカラバイオ株式会社**