

製品コード 9021

研究用

Takara

***E. coli* HB101 Electro-Cells**

説明書

v201611Da

I. 内容

<i>E. coli</i> HB101 Electro-Cells	50 μ l \times 10
pBR322 DNA (10 pg/ μ l)	10 μ 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 ₄
	10 mM MgCl ₂
	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 pBR322 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、エレクトロポ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に特に威力を発揮します。

E. coli HB101 Electro-Cells は、組換え DNA 技術の開発当初より汎用され、遺伝的形質も安定した使いやすい菌株であり、遺伝子ライブラリーの作製、組換え体プラスミドの作製やサブクローニングに適しています。

注) 本株は *lacZ* Δ M15 の変異を持たないため、X-Gal によるコロニーの青白選択には利用できません。

IV. 使用方法

- (1) *E. coli* HB101 Electro-Cells (50 μ l) を使用直前に、氷中で融解する。
- (2) 融解した Electro-Cells に 1 ~ 2 μ 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、もしくは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、DNA 溶液はエタノール沈澱してから用いる)。
- (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* 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。
- (7) 37℃ で一晩放置する。

* : タカラバイオでは BIO-RAD 社製の MicroPulser を用い、1.8 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 Ω 、25 μ F、1.8 kV でのパルスが標準です。

[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. 50 μ l の Electro-Cells を用いる場合、形質転換する DNA の量を、高純度なもので 10 ng 以下にしないと効率は悪くなります。
3. 分子量の大きな 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 ψ b-broth でも構いませんが、若干効率が悪くなる場合があります。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 前後に調製し、オートクレーブする。

< ψ b-broth >

20 g Bacto tryptone, 5 g Bacto yeast extract, 5 g MgSO₄·7H₂O / 1 L water を 1 N KOH で pH7.5 前後に調製し、オートクレーブする。

6. 希釈が必要な時は、IV. 使用方法 - (4) で加えた培地で希釈してください。
7. 一度融解した Electro-Cell 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は、ドライアイス／エタノール中で凍結させ、- 80℃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

IV. 使用方法に従って 10 pg の pBR322 プラスミドで形質転換し、Amp⁺ のプレートでコロニーを選別しました。

このとき > 5 × 10⁸ transformants/ μ g pBR322 プラスミド DNA の形質転換効率を得ました。

VI. Genotype

E. coli HB101 :

supE44, Δ (*mcrC-mrr*), *recA13*, *ara-14*, *proA2*, *lacY1*, *galK2*, *rpsL20*, *xyl-5*, *mtl-1*, *leuB6*, *thi-1*

VII. Cell density > 1 × 10¹⁰ 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 HB101 Competent Cells (製品コード 9051)
pBR322 DNA (製品コード 3050)

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