

---

---

***ECOS*<sup>TM</sup> Competent *E.coli* DH5  $\alpha$**   
**- Jumbo Pack -**  
**マニュアル(第2版)**

---

---

Code No. 312-07031

500  $\mu$ l  $\times$  6 本

**NIPPON GENE CO., LTD.**

## I 製品説明

*ECOS*<sup>TM</sup> Competent *E.coli* DH5  $\alpha$  は大腸菌 DH5  $\alpha$  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。さらに、本パッケージは 500  $\mu$ l/tube 分注で安価な価格設定となっており、多数の形質転換実験を行う場合に大幅なコスト削減が可能となる包装となっております。

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。

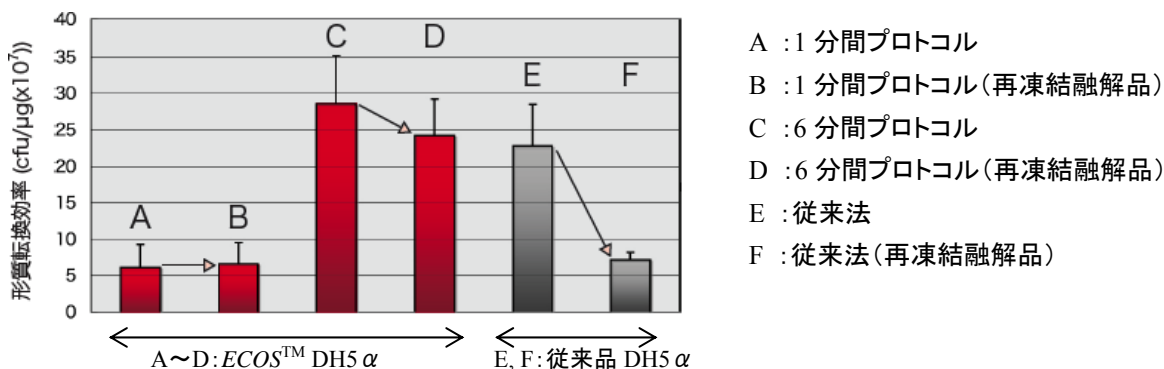
また、本品は長期間高い形質転換効率を保ったまま保存できることや、1 度凍結融解(再凍結)しても形質転換効率があまり低下しないことなど、従来のコンピテントセルにはなかった特長を打ち合わせています。

\* : 薬剤にアンピシリンを使用した場合

### 特長

- *ECOS*<sup>TM</sup> 6 分間プロトコルで高効率形質転換が可能
- *ECOS*<sup>TM</sup> 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

<参考データ\* : 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:** *ECOS*<sup>TM</sup> Competent *E.coli* DH5  $\alpha$  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。

\* : 本参考データは、100  $\mu$ l/tube で販売している *ECOS*<sup>TM</sup> DH5  $\alpha$  を使用したデータである。

## Ⅱ DH5 $\alpha$ の遺伝子型

F<sup>-</sup>,  $\Phi$ 80dlacZ  $\Delta$ M15,  $\Delta$ (lacZYA-argF)U169, hsdR17( $r_k^-m_k^+$ ), recA1, endA1, relA1, deoR, supE44, thi-1, gyrA96,  $\lambda^-$

## Ⅲ 形質転換効率

$\geq 1 \times 10^7$  (cfu/ $\mu$ 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、以下に示す所定の条件で形質転換を実施した場合の効率となります。

1. コンピテントセルを氷上で 500  $\mu$ l 全量を融解し、数回ピペッティングした後、100  $\mu$ l を別の 1.5ml チューブに分取して使用する。
  2. 1 pg の pUC19 DNA を添加する。
  3. 2 秒間ボルテックスする。
  4. 氷上で 30 秒間インキュベートする。
  5. 42°C で 45 秒間インキュベートする。
  6. 全量をプレーティングする。
- アンピシリンは 50  $\mu$ g/ml で使用する
  - 4°C の LB プレートを使用する。

## IV 保存と凍結融解(再凍結)について

### -80°C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。
- 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できるだけ避けて下さい。複数回の凍結融解を行った場合の形質転換効率については、下記の参考データをご覧ください。
- 凍結融解(再凍結)を行う場合、融解・分取・分注操作を氷上で素早く行い、-80°Cで再凍結して下さい。可能であれば、液体窒素での凍結が理想的です。
- 凍結融解後の形質転換効率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、予めご了承下さい。

### <参考データ>

	融解回数 1	融解回数 2	融解回数 3	融解回数 4	融解回数 5
平均効率*	$2.27 \times 10^8$	$1.79 \times 10^8$	$1.13 \times 10^8$	$1.01 \times 10^8$	$8.65 \times 10^7$

\* : 8 サンプルでの平均形質転換効率(単位: cfu/ $\mu$ g pUC19 DNA)

### 実験方法

1. 氷上で500 $\mu$ lを融解する。
2. 100 $\mu$ lを別のチューブに分取し、形質転換を行う。
3. 残りは-80°Cで凍結する。
4. 再度融解し、100 $\mu$ lを別のチューブに分取し、形質転換を行う。
5. 3~4の操作を繰り返す。

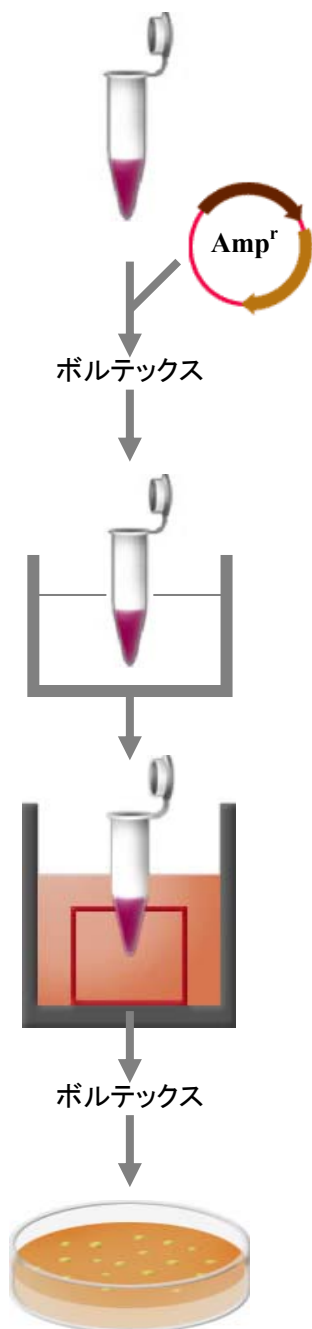
## V 使用上の注意

- 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。
- 本品のお取り扱い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。

## 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。

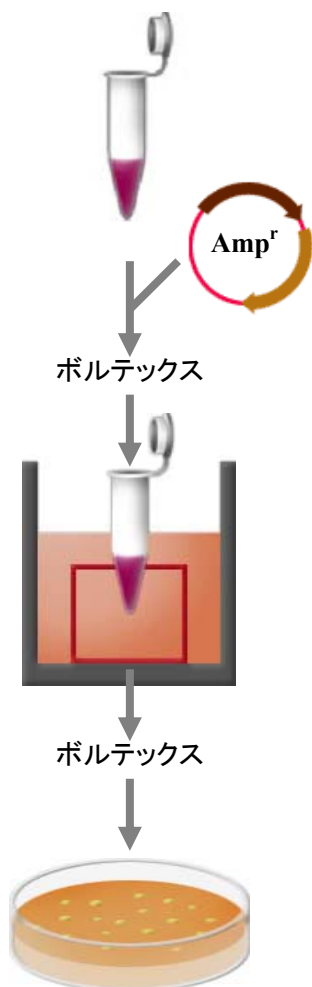


- 氷上でコンピテントセルを融解する。
- 形質転換に必要な量を分取する。
- 直ちに、4℃または氷上で冷却したプラスミド溶液またはライゲーション溶液を添加する(\*1)。
- 直ちにボルテックスで 1 秒間攪拌する(\*2)。
- 氷上で 5 分間インキュベートする。
- 直ちに 42℃で 45 秒間インキュベートする。
- 直ちにボルテックスで 1 秒間攪拌する(\*2)。
- 直ちに全量を LB プレートに移し均一に塗布する(\*3)。
- 37℃で 12~16 時間インキュベートする。

## 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。
- 形質転換に必要な量を分取する。
- 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(\*1)。
- 直ちにボルテックスで 1 秒間攪拌する(\*2)。
- 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(\*2)。
- 直ちに全量をプレートに移し均一に塗布する(\*3)。
- 37℃で 12~16 時間インキュベートする。

( \* 1 )

添加する DNA 溶液の量はコンピテントセルの容量の 5%以下にしてください。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。

( \* 2 )

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。

( \* 3 )

LB プレートは 4°Cのものを使用することが出来ます。また、セレ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  $\mu$ g/ml

カナマイシン : 25  $\mu$ g/ml

テトラサイクリン : 12.5  $\mu$ 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°C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
----------	-----	------

319-05961	Ligation-Convenience Kit	100 回分
-----------	--------------------------	--------

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。

316-08271	TA-Enhancer Cloning Kit	25 回分
-----------	-------------------------	-------

TA-Enhancer Cloning Kit は、T ベクターとライゲーション用試薬を組み合わせた TA クローニング用キットです。これまで効率が低いとされてきた TA クローニングを高効率に行うことができます。

311-06543	TA-Blunt Ligation Kit	50 回分
-----------	-----------------------	-------

312-06291	Blunting-Convenience Kit	25 回分
-----------	--------------------------	-------

314-06251	Bac' n' Roll Beads	100 回分
-----------	--------------------	--------

バックンロールビーズは、大腸菌コンピテントセルを LB プレートなどに塗布する際に使用するプレーティングビーズです。一度のプレーティングに約 10 粒使用することで、約 100 枚のプレーティングを行うことができます。

319-01343	Hi-Competence Broth	1 ml×20 本
-----------	---------------------	-----------

Hi-Competence Broth は回復用培地です。Hi-Competence Broth には外来 DNA を取り込んだ Competent *E. coli* の回復や生育を促進する作用があります。

### お問い合わせ先

株式会社ニッポンジーン  
研究試薬部 学術営業課

T E L 076 - 451 - 6548

U R L <https://www.nippongene.com>

お問い合わせは、お電話もしくは WEB フォームより承っております。