

HB101、DH5 α 等のトランスフォーム

注意

コンピテントセルは、-80C で保存する

購入から半年程度は使用可

各チューブ 100ul のセル溶液が入っているので、2-4 サンプルなら小分けして使用する

準備

添付されている SOC 培地を溶解する

プレート室温にする

プレートに抗生物質を加えていないときは、ベクターに合った抗生物質を塗る

(プレート作ってから何ヶ月も経っているときは、もう一度、抗生物質を塗る)

トランスフォームの手順

- 1) コンピテントセルをフリーザーから取り出し、氷上で冷却
↓
- 2) セルを指先で溶かし、即座にプラスミド溶液 (100ul のセル溶液に対して 10ul 以下) を加える。軽く攪拌
↓
- 3) 氷上で 30 分静置
↓
- 4) 42C (湯沸かし機のお湯でよい) で、1 分間ヒートショック
↓
- 5) 氷上で 1-2 分静置
↓
- 6) セル溶液 100ul に対して 900ul の SOC 培地を加える
↓
- 7) 37C で 1 時間振とう (ヒートブロックでのインキュベートでもよい)
↓
- 8) 遠心 (5000rpm, 5min) で菌体を沈殿する
↓
- 9) 上清を 50ul にして、菌体をサスペンドし、全量プレートにまく