

Transformation (E.coli)

Chie Mori 110830

準備するもの

- コンピテントセル
- SOC 培地 (LB 培地)
- LB プレート (抗生物質入り)
- アイスバス
- 42°C ヒートブロック
- 37°C インキュベーター

- 1) 氷上でコンピテントセル (-80°C 保存) を解凍し、均一になるように混ぜる。
 - ・ 一種類の形質転換体に 50 μ l のコンピテントセルを使用。
- 2) コンピテントセルに形質転換する DNA 溶液を加え、軽く混ぜる。
 - ・ plasmid DNA なら、一回の形質転換に 10~20ng 程度あれば十分。
 - ・ DNA 溶液の容量はコンピテントセルの 10 分の 1 まで。
- 3) 氷上で 30min (20~60min) 静置。
- 4) 42°C ヒートブロックで 30sec (~90sec) インキュベート。(ヒートショック)
- 5) 氷上で 2min 静置
- 6) 450 μ l (~900 μ l) の SOC 培地を添加。
 - ・ LB 培地でも代用可。
- 7) 37°C のインキュベーターで 1hr インキュベート。(抗生物質耐性遺伝子の発現)
- 8) 抗生物質入りの LB プレートにスプレッドする。
 - ・ 液量が多い場合は遠心して (3krpm, 2min~) 培地を捨て、少量の培地に懸濁してからプレートにのばすとよい。
 - ・ 表面が乾くまで静置。
- 9) プレートを下に向け、37°C でオーバーナイト、インキュベートする。
 - ・ コロニーがオーバーグロースしないように気を付ける。(インキュベートの時間は 16~20hr くらいが目安)