

## ⑤ クローニングキットとの組み合わせにも最適

### 使用例 迅速で高効率なTAクローニング

#### 1. ライゲーション

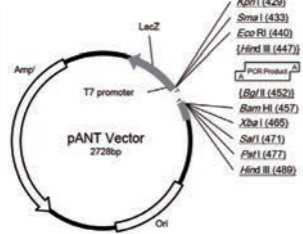
高効率なTAクローニングキット

#### TA-Enhancer Cloning Kit

- PprAタンパク質で高効率なライゲーションが可能
- 30分間でライゲーション反応が完了
- 反応終了液はそのまま形質転換に使用可能

- Hot-Start Gene Taq NT (Code No. 311-07523) 等のTdT活性のあるPCR酵素を用いて目的の配列を増幅する(インサートの調製)。
- ISOSPIN PCR Product (Code No.315-08001) 等のPCR産物精製キットを用いて、PCR反応液の精製を行う。
- ライゲーション液を調製する。

pANT Vector (25 ng/μl) ★ 1.8 μl  
PCR産物 x μl  
5×Ligation Mix ★ 4 μl  
10×Enhancer Solution ★ 2 μl  
ddH<sub>2</sub>O up to 20 μl



- 16°Cで30分間反応させる。

★...キット構成品

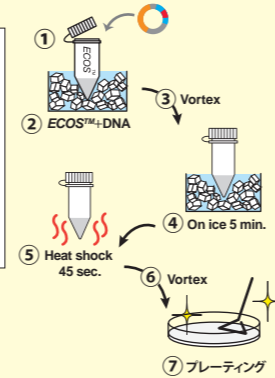
#### 2. 大腸菌への形質転換

超迅速 大腸菌コンピテントセル

#### ECOS™ Competent *E. coli*

##### <6分間プロトコル>

- 氷上でコンピテントセルを融解する。
- ①にライゲーション反応液を加える。
- 1秒間ボルテックス
- 氷上で5分間インキュベート
- 42°Cで45秒間インキュベート
- 1秒間ボルテックス
- LBプレートに塗布し、37°Cで16時間培養。



#### 3. インサートチェック

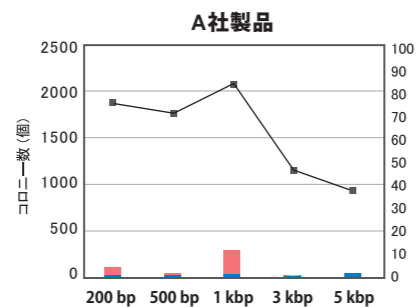
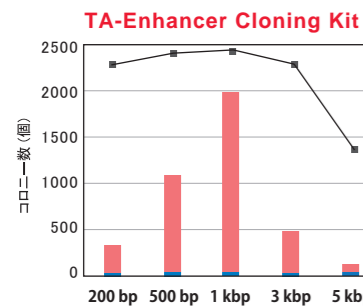
2×プレミックスタイプのPCR試薬

#### Gene RED PCR Mix Plus

- 簡単操作の2×プレミックスタイプ
- 高速反応が可能(伸長時間10秒/kb)
- 2色のDye入りで、そのままアプライ可能
- 様々なサンプルに対応

#### ■ 他社製品との比較 - 各鎖長のライゲーション効率 -

TA-Enhancer Cloning KitとA社ライゲーション用試薬を比較するため、各社製品プロトコルに従ってクローニングを行った。各インサート長のPCR産物を用いて、16°C、30分間(A社:室温、60分間)のライゲーション反応を行った。ECOS™ Competent *E. coli* JM109へ形質転換(6分間プロトコル)し、本品とA社製品のライゲーション効率を比較した。



##### <結果>

本品はA社製品と比較して、コロニー数および白コロニー率において優位性が認められた。

- 白コロニー
- 青コロニー
- 白コロニー率(%)

#### ■ 関連製品

Code No.	製品名	容量	希望納入価格(税別)
316-08271	TA-Enhancer Cloning Kit	高効率TAクローニングキット	25 回分 ¥ 23,000
311-06543	TA-Blunt Ligation Kit	TA・平滑ライゲーション専用試薬	50 回分 ¥ 22,000
319-05961	Ligation-Convenience Kit	簡単・迅速ライゲーション試薬	100 回分 ¥ 20,000
311-07763	Gene RED PCR Mix Plus	2×プレミックスタイプPCR試薬	96 回分 ¥ 8,600
315-08383	Hot-Start Gene RED PCR Mix	2×プレミックスタイプPCR試薬	96 回分 ¥ 13,500
314-06251	Bac'n'Roll Beads	プレーティングビーズ	100 回分 ¥ 8,400

製造元 株式会社ニッポンジーン

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号  
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547  
URL: http://www.nippongene.com

販売元 富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)  
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)  
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806

## 超迅速! 大腸菌コンピテントセル

# ECOS™ Competent *E. coli*



### ECOS™(イーコス)コンピテントセルについて

ECOS™ Competent *E. coli* は、回復ステップであるSOC培地での培養を必要とせず、短時間で形質転換を行うことができる画期的なコンピテントセルです。また、形質転換効率も高く、凍結融解や長期保存が可能です。

#### 高速・高効率 で形質転換できる

- 6分間プロトコル  
短時間でも高効率を実現!
- 1分間プロトコル  
サブクローニングにお勧め!
- ヒートショック不要  
(オプションプロトコル)

#### 凍結融解 ができる

お好みの量に小分けして、  
残りを-80°Cで凍結保存可能。

#### 長期保存 ができる

形質転換効率低下の目安は  
1年間で約1/2程度です。  
(-80°Cのフリーザーで保管した  
場合の実績に基づいています。)

※1) 6分間、1分間プロトコルはセレクションにアンピシリンを使う場合にのみ有効です。薬剤耐性機構の違いにより、その他の薬剤(テトラサイクリン、カナマイシン等)の場合は、ヒートショック後にSOC培地を加え、30分間培養してからプレーティングして下さい。  
※2) 一度の凍結融解(再融解)では形質転換効率はほとんど低下しませんが、凍結融解の繰り返しは大幅な低下につながります。

### 最短1分間で完了! ECOS™ Competent *E. coli* シリーズ

Code No.	製品名	容量	希望納入価格(税別)
310-06236	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> DH5α	50 μl × 40 本	¥ 40,000
310-06231	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> DH5α	100 μl × 2 本	¥ 9,000
316-06233	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> DH5α	100 μl × 20 本	¥ 36,000
314-06234	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> DH5α	100 μl × 80 本	¥ 132,000
312-07031	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> DH5α -Jumbo Pack-	500 μl × 6 本	¥ 39,000
317-06246	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> JM109	50 μl × 40 本	¥ 40,000
317-06241	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> JM109	100 μl × 2 本	¥ 9,000
313-06243	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> JM109	100 μl × 20 本	¥ 36,000
311-06244	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> JM109	100 μl × 80 本	¥ 132,000
311-06521	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> XL1-Blue	100 μl × 2 本	¥ 10,000
317-06523	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> XL1-Blue	100 μl × 10 本	¥ 24,000
315-06524	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> XL1-Blue	100 μl × 20 本	¥ 44,000
318-06531	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> BL21(DE3) ※3	100 μl × 2 本	¥ 10,000
314-06533	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> BL21(DE3) ※3	100 μl × 10 本	¥ 27,000
312-06534	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> BL21(DE3) ※3	100 μl × 20 本	¥ 50,000

形質転換効率 (ECOS™ 1分間プロトコルで実施した場合)  
DH5α, JM109, XL1-Blue ≥ 1 × 10<sup>7</sup> (cfu / μg pUC19 DNA)  
BL21 (DE3) ≥ 1 × 10<sup>6</sup> (cfu / μg pUC19 DNA)

※3) カルタヘナ法該当品です。

### 高効率(10<sup>9</sup>)なDH5α株には ECOS™ X Competent *E. coli* DH5α

Code No.	製品名	容量	希望納入価格(税別)
314-07731	ECOS™ X Competent <i>E. coli</i> DH5α	100 μl × 2 本	¥ 11,000
310-07733	ECOS™ X Competent <i>E. coli</i> DH5α	100 μl × 10 本	¥ 32,000

形質転換効率 (ECOS™ X 6分間プロトコルで実施した場合)  
DH5α ≥ 1 × 10<sup>9</sup> (cfu / μg pUC19 DNA)

# ECOS™ Competent *E. coli* の特長について

## ① 大腸菌の形質転換が最短1分間で完了します

- 薬剤にアンピシリンを使用する場合、回復ステップであるSOC培地での培養が不要です。

特別な製法で調製したECOS™コンピテントセルは薬剤にアンピシリンを使用する場合、回復培養の工程を省略して短時間で形質転換を行うことができます。

### 《短時間プロトコルの使い分け》

- 1分間プロトコル ... サブクローニングにお勧め、ヒートショック不要 → 詳しくは **オプションプロトコル** をご覧ください。
- 6分間プロトコル ... 短時間でも高効率に形質転換できる (1分間プロトコルの2~3倍)

### 大腸菌形質転換の操作フロー



## ② 凍結融解による効率低下を最小限に抑えられます

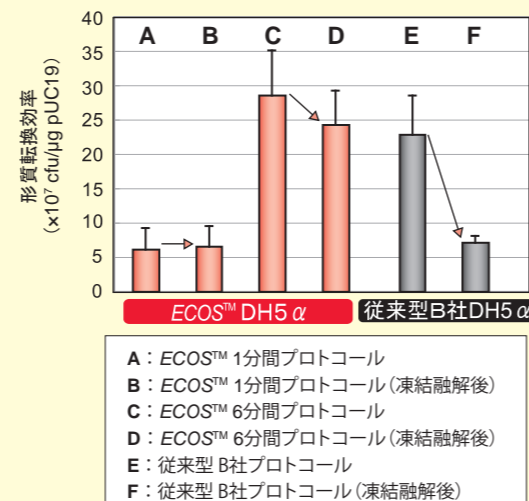
- お好みの量に小分けして、残りを -80℃で再度保管できます。

### 《実験例1》再凍結融解による形質転換効率への影響

ECOS™ Competent *E. coli* DH5αおよび従来型のB社製品を氷上で融解後、-80℃で再凍結させたものを使用し、各社プロトコルで形質転換を行った。

**《結果》**  
本品は、凍結融解後でも約85%以上の効率を維持\*しました。

\* 一度の凍結融解(再凍結)では形質転換効率はほとんど低下しませんが、凍結融解の繰り返しは大幅な低下につながります。

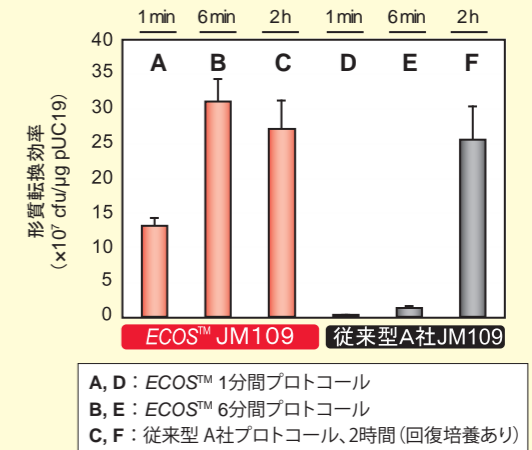


## ③ SOC培地による回復培養なしでも効率は下がりにません\*1

### 《実験例2》回復培養の有無による形質転換効率の違い

ECOS™ Competent *E. coli* JM109及び従来型A社JM109を各社プロトコルと比較した。プロトコルは、ECOS™1分間プロトコル、ECOS™6分間プロトコル、A社製品プロトコル(SOC培地を添加して培養する従来型のプロトコル、約2時間)で行った。

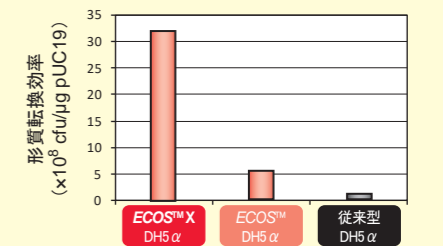
**《結果》**  
本品は、1分間プロトコルでも十分な効率が得られます。さらに6分間プロトコルは、従来型A社プロトコル(2時間)で使用した場合と同等以上の性能を発揮しました。



### さらに高い形質転換効率が必要な実験には ECOS™ X Competent *E. coli* DH5α

- 高効率  $\geq 1 \times 10^9$  (cfu/μg pUC19 DNA)
- 短時間 (6分間プロトコル)\*1
- 高度なクローニングやライブラリー作製に使用可能

### 《6分間プロトコルでの形質転換効率の比較》



\*1) 薬剤にアンピシリンを使用する場合。

## ④ 長期保存ができます

- 形質転換効率低下の目安は、-80℃のフリーザーで保管した場合、1年間で約1/2程度\*2です。

\*2) -80℃のフリーザーで保管した場合の実績に基づいています。

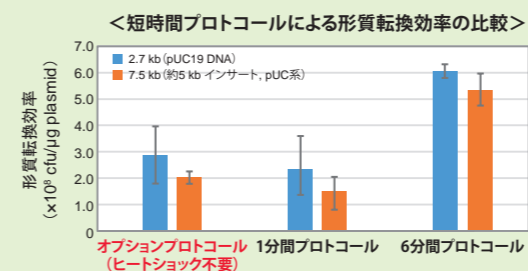
### オプションプロトコル

### 「1分間プロトコル」からヒートショックを省けます

従来の「1分間プロトコル」から42℃のヒートショック処理を省くことができます。ヒートショック用のウォーターバス等を用意する手間もなくなり、より簡単に迅速に形質転換を完了できます。

- 形質転換効率は?

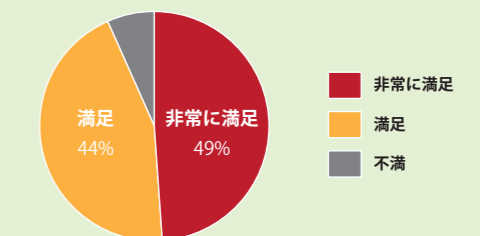
ECOS™ Competent *E. coli* DH5αを「オプションプロトコル(ヒートショック不要)」、「1分間プロトコル」、「6分間プロトコル」で、pUC19 DNA (2.7 kb) とpUC系プラスミドDNA (7.5 kb) を用いて形質転換を行いました (n=3)。



ヒートショックを行う従来の1分間プロトコルと同等の効率が得られました!

- ヒートショック無しで本当に大丈夫?

ECOS™ 体験キャンペーンを行い、評価結果をお聞きしました。



Q. 「オプションプロトコル(ヒートショック不要)」の結果にご満足頂けましたか? (45件回答)

お試しいた結果、93%の方が「非常に満足」または「満足」と答えています!