

Takara Stable Competent Cells

Code No. 9132 **Size: 100 μ l x 10**

Supplied Reagents:

pUC19 DNA (0.1 ng/ μ l) **10 μ l**
SOC Medium **1 ml x 10**

Description:

Takara Stable Competent Cells are designed to improve the stability of DNA by disrupting the genes related to homologous recombination. Therefore, they are ideal for cloning of unstable DNA such as the sequences containing poly(A) or repeats. In addition, Takara Stable Competent Cells lack a *fhuA* gene to provide resistance to T1 bacteriophage infection. For cloning, the use of In-Fusion® Snap Assembly Master Mix (Cat. #638943/638944/638947 - 638949) is highly recommended. The competent cells can also be used for blue/white screening using X-Gal* (i.e., β -galactosidase α -complementation) when transformed with pUC-based plasmids.

* X-Gal: 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside

Storage: -80°C

Note: Inadequate temperature control may reduce the transformation efficiency. In such cases, check the transformation efficiency using the provided pUC19 DNA. Do not store the competent cells in liquid nitrogen.

SOC Medium:

2%	Tryptone
0.5%	Yeast extract
10 mM	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgSO ₄
10 mM	MgCl ₂
20 mM	Glucose

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Usage:

Cloning of unstable DNA such as the sequences containing poly(A) or repeats

Genotype:

F⁻, *endA1*, *supE44*, *thi-1*, *recA1*, *relA1*, *gyrA96*, *phoA*, Δ *sbcd*, Φ 80d *lacZ* Δ *M15*, Δ *fhuA*, Δ (*lacZYA-argF*) *U169*, Δ (*mrr-hsdRMS-mcrBC*), Δ *mcrA*, λ ⁻

Cell density:

1 - 2 x 10⁹ bacteria/ml

Protocol (When transforming with a plasmid vector):

1. Thaw Takara Stable Competent Cells in an ice bath just before use.
2. After thawing, mix gently to ensure even distribution, and then move 100 μ l of competent cells into a 14 ml round-bottom tube (falcon round tube). Do not vortex.
3. Add no more than 10 ng of DNA for transformation.
4. Place tubes on ice for 30 minutes.
5. Heat shock the cells for exactly 45 seconds at 42°C.
6. Place tubes on ice for 1 - 2 minutes.
7. Add SOC Medium to bring the final volume to 1 ml. SOC Medium should be warmed to 37°C before using.
8. Incubate by shaking (160 - 225 rpm) for 1 hour at 37°C.
9. Plate an appropriate amount of culture on selective medium.*1,2
10. Incubate overnight at 37°C.

*1 If necessary, dilute with the SOC Medium added in step 7.

*2 An appropriate amount should be less than 100 μ l for a 9 cm diameter plate.

Precautions for Use:

- Use no more competent cells than necessary. Transport cells on dry ice/ethanol.
- You may use 1.5 ml microcentrifuge tubes instead of 14 ml round-bottom tubes for transformation (see Protocol Step 2), but this may reduce efficiency.
- When transforming 100 μ l of competent cells, do not use more than 10 ng of purified sample DNA. If you use more than 10 ng of DNA, transformation efficiency may decrease.
- If you change the amount of competent cells, or types of tubes used, it might be necessary to reevaluate the optimal conditions. For example, when using 1.5 ml microcentrifuge tubes, heat shock for 60 seconds at 42°C (see Protocol Step 5).
- Add an appropriate antibiotic to the medium depending on the vector used for cultivation.
- When adding X-Gal to medium, add 20 mg/ml X-Gal (dissolved in dimethylformamide) into 200 - 300 μ l/100 ml agar medium.
- Do not refreeze competent cells once thawed.

References:

- 1) Hanahan, D. *J Mol Biol.* (1983) **166**: 557-580.
- 2) Yanisch-Perron, C., et al. *Gene.* (1985) **33**: 103-119.

Related Products:

In-Fusion® Snap Assembly Master Mix

(Cat. #638943/638944/638947 - 638949)

X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside) (Cat. #9031)

In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6972 or from our website at www.takarabio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

Takara Stable Competent Cells

Code No. 9132

容量： 100 μ l \times 10

添付試薬：

pUC19 DNA (0.1 ng/ μ l) 10 μ l
SOC Medium 1 ml \times 10

● 製品説明

Takara Stable Competent Cells は、DNA の安定性が向上するように相同組換えに関連する遺伝子の一部が破壊されている。そのため、poly(A) 配列やリポーター配列などを含む、不安定な DNA のクローニングに適している。また、本製品は T1 バクテリオファージの感染に必要な *fhuA* 遺伝子を欠損させてあるため、本ファージに対して耐性がある。クローニングの際には、In-Fusion Snap Assembly Master Mix (製品コード 638943/638944/638947～638949) の使用を推奨する。pUC 系ベクターを使用する場合、 β -ガラクトシダーゼの α -相補性を利用した、X-Gal* の分解によるコロニーの青白選択ができる。

* X-Gal： 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside

● 保存 - 80°C

注) 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 pUC19 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。

● 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

● 品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

● 用途

poly(A) やリポーター配列などを含む、不安定な DNA のクローニング

● 遺伝子型

F⁻, *endA1*, *supE44*, *thi-1*, *recA1*, *relA1*, *gyrA96*, *phoA*, Δ *sbcd*, Φ 80d
lacZ Δ M15, Δ *fhuA*, Δ (*lacZYA* - *argF*) U169, Δ (*mrr* - *hsdRMS* - *mcrBC*),
 Δ *mcrA*, λ ⁻

● Cell density

1 ~ 2 \times 10⁹ bacteria/ml

● 使用方法 (プラスミドベクターで形質転換する場合)

1. Takara Stable Competent Cells を使用直前に、氷中で融解する。
2. 融解後、穏やかに混和して均一にし、100 μ l のコンピテントセルを 14 ml 丸底チューブ (ファルコン・ラウンドチューブ等) に移す (ポルテックスは使用しない)。
3. 形質転換する DNA を加える (10 ng 以下が望ましい)。
4. 氷中、30 分間静置する。
5. 42°C で 45 秒間インキュベートする。
6. 氷中 1 ~ 2 分間静置する。
7. あらかじめ 37°C に保温しておいた SOC Medium を最終 1 ml になるように加える。
8. 37°C で 1 時間振とうする (160 ~ 225 rpm)。
9. プレートに適量まく。* 1, 2
10. 37°C で一晩静置する。

* 1：希釈が必要なときは、7. で使用した SOC Medium で希釈する。

* 2：プレートにまく液量は、直径 9 cm プレートの場合、100 μ l 以下にする。

● 使用上の注意

- ・コンピテントセルは必要本数だけを取り出してください。運搬時はドライアイス/エタノールに入れてください。
- ・14 ml 丸底チューブ (BD 社 Code. 352059 または 352057 等) の他、1.5 ml マイクロ遠心チューブを用いても形質転換は可能ですが (使用方法 2. を参照)、効率が若干悪くなることがあります。
- ・100 μ l のコンピテントセルを用いる場合、形質転換に用いる 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。
- ・スケール (コンピテントセルの量など) を変えたり、他のチューブ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。例えば、1.5 ml マイクロ遠心チューブを用いるときは、42°C で 60 秒間インキュベートしてください (使用方法 5. を参照)。
- ・培養の際は、使用するベクターに応じて抗生物質を培地に添加してください。
- ・X-Gal を添加する場合は、20 mg/ml X-Gal (ジメチルホルムアミドに溶解) を 200 ~ 300 μ l/100 ml 寒天培地に添加してください。
- ・一度融解したコンピテントセルを再度凍結保存することはお勧めしません。

● 参考文献

- 1) Hanahan, D. *J Mol Biol.* (1983) **166**: 557-580.
- 2) Yanisch-Perron, C., *et al. Gene.* (1985) **33**: 103-119.

● 関連製品

In-Fusion® Snap Assembly Master Mix
(製品コード 638943/638944/638947 ~ 638949)
X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside) (製品コード 9031)

● 注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用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。
本データシート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。

v202311Da