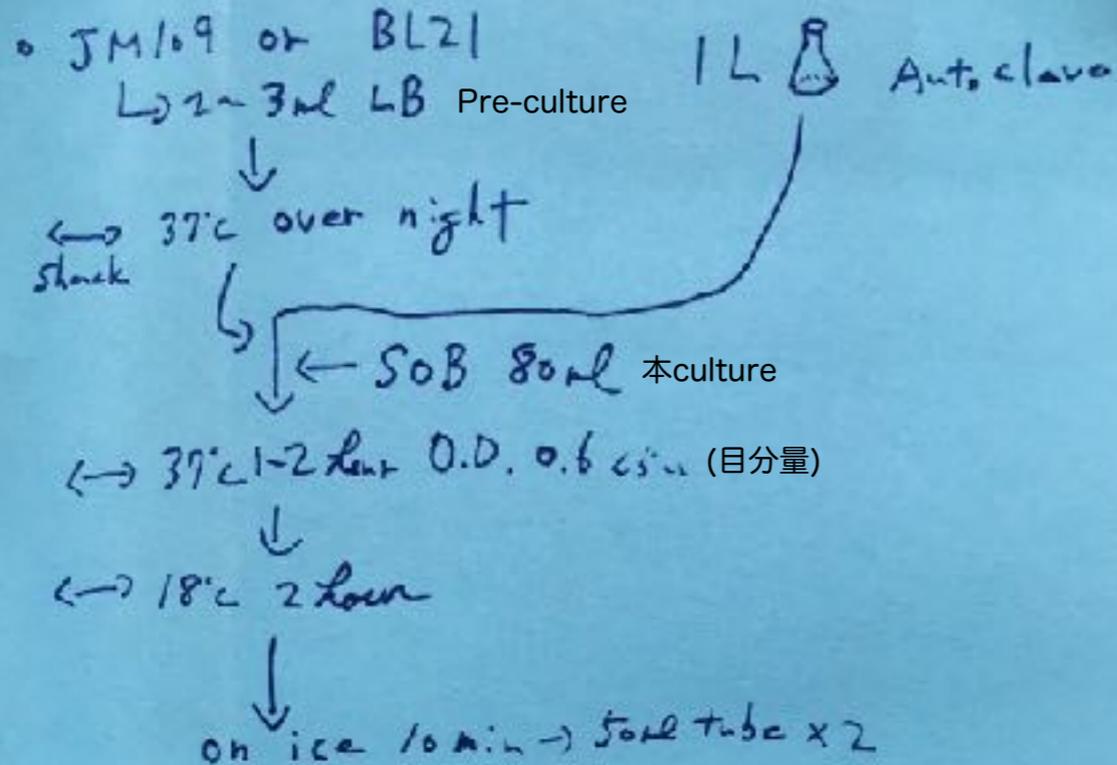
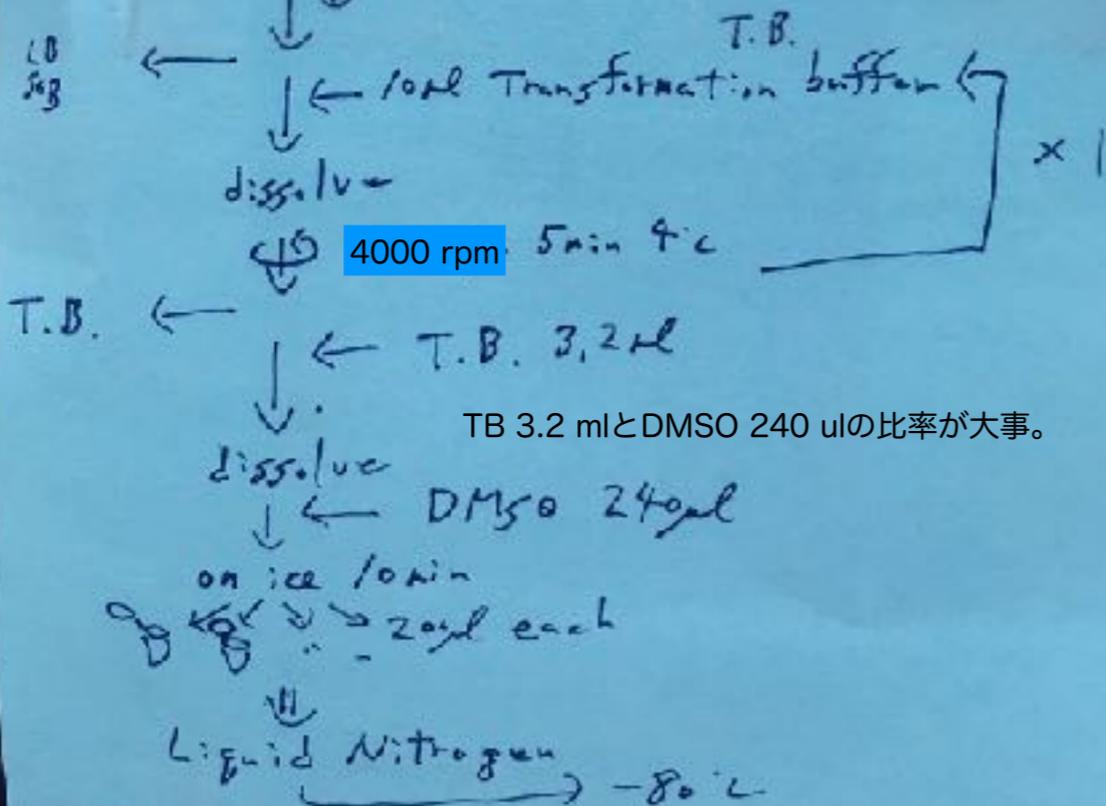


Competent cell



4000 rpm 5min 4°C



日程は、

1日目夕方に5分程度

2日目朝に5分程度、18°Cに移し替え30秒

収菌からコンピ完成まで、慣れれば1時間程度

Pre-culture用のタネ菌(JM109やBL21など)はLBプレートにストリークしたのがよいが、コンピをちょっと(5 ulくらい)とつてもよい。

SOB(ニセモノ)の作り方

面倒なので、倍の濃度のLBを使用。

LBのもと(12.5g/500 mlが通常)を倍の濃度で作る。

つまり、25g/500 ml。

Transformation Buffer (T.B.)の作り方

	最終濃度
PIPES 3.0g	10mM
CaCl ₂ · 2H ₂ O 2.2g	15mM
KCl 18.6g	250mM

950mlくらいのmilliQに懸濁後、5 mol/L KOHでpHを6.7~6.8に合わせる(pHが合うと溶解)。次いでMnCl₂ · 4H₂O を10.9g加えて溶かす(最終濃度が55mM)。フィルター滅菌して4°C保存。