

大腸菌培養 目次

| | |
|-------------------------|-----------|
| 大腸菌の培養方法 | 2 |
| 画線培養 | 2 |
| シングルコロニーからの液体培養 | 2 |
| よく使う溶液 | 3 |
| 5 N 水酸化ナトリウム溶液 | 3 |
| 1 M 塩化マグネシウム溶液 | 3 |
| 1 M 硫酸マグネシウム溶液 | 3 |
| 1 M 塩化カリウム溶液 | 3 |
| 1 M グルコース溶液 | 4 |
| IPTG ストック溶液 (0.1 M) | 4 |
| X-Gal ストック溶液 (2 %) | 4 |
| 微生物用培地 | 5 |
| LB 培地の作製 | 5 |
| LB 寒天培地 (LB アガーパー地) の作製 | 6 |
| TB 培地の作製 | 7 |
| SOC 培地の作製 | 8 |
| 抗生素質 | 10 |
| アンピシリン溶液の調製 | 10 |
| カナマイシン溶液の調製 | 10 |
| クロラムフェニコール溶液の調製 | 10 |
| テトラサイクリン溶液の調製 | 10 |
| 大腸菌の形質転換 | 13 |
| ヒートショック法 | 13 |
| 改変ヒートショック法 | 14 |

大腸菌の培養方法

大腸菌は一般的にプレート培地上で画線培養してコロニーを形成させ、そのコロニーからピックアップして液体培地で培養します。

画線培養

1. 白金耳の先端を 70 % エタノールにつけ、バーナーの炎で軽くあぶりります。
2. 熱した白金耳の先端をプレート培地の表面に軽くあて（数秒）、白金耳を冷めます。
3. 2 の白金耳の先端を大腸菌の溶液につけ、プレート培地表面に線を描くように塗ります。
4. 塗り終わったらプレートのフタをしめ、37°Cで培養します（数時間～一晩）。

シングルコロニーからの液体培養

1. 画線培養してコロニーを形成させます。
2. プラスチックチューブ（15 mL 遠心チューブなど）に数 mL（2.5 mL など）の液体培地を無菌的に分注します。液体培地には使用している大腸菌・プラスミドに適した抗生物質を適量添加します。
3. 滅菌したつまようじ（または白金耳）の先端を、画線培養したプレート上のひとつの大腸菌コロニーに接触させます。作業は無菌的に行います。コロニーは完全にかき取る必要はありません。
4. 2 で分注した液体培地に、3 のつまようじの先端を軽く浸します。作業は無菌的に行います。
5. チューブのフタを閉め、ウォーターバス内を用いて 37 度で振とうさせながらインキュベートします。チューブのフタを完全に閉めると酸素が不足しますので、軽く緩める必要があります。チューブを斜めにセットすると効率よく振とうすることができます。振とうは激しく（200～300 rpm）行います。ただし、チューブ内にウォーターバスの水が入らないように高さを調製します（揺れたときの培地液面はウォーターバスの水面より下になるようにします）。
6. 数時間～一晩培養します。このインキュベーション終了時点でプラスミド抽出（プラスミドミニプレップ）を行うこともできます。その他の目的のために大量に培養を行う場合は次の手順に進んで下さい。
7. 予め滅菌した三角フラスコに滅菌済みの液体培地を無菌的に分注し、適切な抗生物質を添加します。フラスコの容量に対し 1/5～1/4 の液量を入れると効率よく培養できます。培地を三角フラスコに分注してアルミ箔または綿栓でフタをしてオートクレーブを行い、冷めてから抗生物質を添加することもできます。
8. 手順 6 で培養した大腸菌液を 7 のフラスコに無菌的にデカントで注ぎ、アルミ箔または綿栓をして、ウォーターバス内を用いて 37°Cで振とうさせながらインキュベートします。振とうは激しく（200～300 rpm）行います。ただし、チューブ内にウォーターバスの水が入らないように高さを調製します（揺れたときの培地液面はウォーターバスの水面より下になるようにします）。
9. 目的に応じて数時間～一晩培養します。大腸菌の増殖度合いは、分光光度計を用いて 600 nm の吸光度（濁度）を測定することで確認できます。

よく使う溶液

5N 水酸化ナトリウム溶液

100 mL 用レシピ

- 約 70 mL の蒸留水をビーカーに入れ、

水酸化ナトリウム (製品番号 **S8045**) 20.0 g を加え、スターラーなどを用い完全に溶かします。

- 100 mL になるように蒸留水でメスアップします。

【保存方法】 溶液は室温で保存可能です (オートクレーブは必要ありません)。

水酸化ナトリウム溶液は強いアルカリ性になり、腐食性があるので十分に気をつけてお取り扱い下さい。

水酸化ナトリウム

NaOH

分子量 40.00

便利な調製済み製品のご紹介

| 製品名 | 特長 | 製品番号 | 販売取扱 |
|-------------|--------|--------------|----------|
| 水酸化ナトリウム 溶液 | 調製済み溶液 | S8263 | S |

1M 塩化マグネシウム溶液

100 mL 用レシピ

- 約 70 mL の蒸留水をビーカーに入れ、

塩化マグネシウム 6 水和物

$MgCl_2 \cdot 6H_2O$

分子量 203.3

塩化マグネシウム 6 水和物 (製品番号 **M2670**) 20.3 g を加え、スターラーなどを用い完全に溶かします。

- 100 mL になるように蒸留水でメスアップします。

- オートクレーブ可能な容器に移し、121°Cで 15 分間オートクレーブします。

【保存方法】 溶液は室温または冷蔵で保存可能です。

硫酸マグネシウム

$MgSO_4$

分子量 120.37

1M 硫酸マグネシウム溶液

100 mL 用レシピ

- 約 70 mL の蒸留水をビーカーに入れ、

硫酸マグネシウム (製品番号 **M2643**) 12.0 g を加え、スターラーなどを用い完全に溶かします。

- 100 mL になるように蒸留水でメスアップします。

- オートクレーブ可能な容器に移し、121°Cで 15 分間オートクレーブします。

【保存方法】 溶液は室温または冷蔵で保存可能です。

塩化カリウム

KCl

分子量 74.55

1M 塩化カリウム溶液

100 mL 用レシピ

- 約 70 mL の蒸留水をビーカーに入れ、

塩化カリウム (製品番号 **P9541**) 7.5 g を加え、スターラーなどを用い完全に溶かします。

- 100 mL になるように蒸留水でメスアップします。

- オートクレーブ可能な容器に移し、121°Cで 15 分間オートクレーブします。

【保存方法】 溶液は室温または冷蔵で保存可能です。

1M グルコース溶液

100 mL 用レシピ

1. 約 70 mL の蒸留水をビーカーに入れ、

グルコース（製品番号 [G7528](#), [346351](#)）18.0 g を加え、スターラーなどを用いて完全に溶かします。

2. 100 mL になるように蒸留水でメスアップします。

3. 孔径 0.2 μm または 0.22 μm のフィルター（カタログ番号 [SLGV033RS](#)）を用いてろ過滅菌します。オートクレーブ滅菌も可能です。

【保存方法】 溶液は室温または冷蔵で保存可能です。

グルコース

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

分子量 180.16

IPTG ストック溶液 (0.1 M)

イソプロピルβ-D-1-チオガラクトピラノシド (IPTG) は大腸菌に導入したプラスミド遺伝子発現誘導などに用いられます

10 mL 用レシピ

1. IPTG（製品番号 [I5502](#), [420322](#)）0.24 g に 10 mL の蒸留水を加え、スターラーなどを用いて完全に溶かします。

2. 孔径 0.2 μm または 0.22 μm のフィルター（カタログ番号 [SLGV033RS](#)）を用いてろ過滅菌します。

【保存方法】 0.1 M のストック溶液は分注して冷凍で保存可能です。

◆大腸菌の遺伝子発現誘導には

一般的に最終濃度 0.2 mM 以上で使用します。

便利な調製済み製品のご紹介

| 製品名 | 特長 | 製品番号 | 販売取扱 |
|---------|--------|-----------------------|----------|
| IPTG 溶液 | 調製済み溶液 | I1284 | S |
| | | 70527 | M |

X-Gal ストック溶液 (2 %)

5-プロモ-4-クロロ-3-インドリルβ-D-ガラクトピラノシド (X-Gal) はプラスミドを導入した大腸菌のブルーホワイトセレクションなどに用いられます

10 mL 用レシピ

1. X-Gal（製品番号 [B4252](#), [9630](#)）0.2 g を 10 mL のジメチルホルムアミド（製品番号 [D4551](#)）で完全に溶かします。

【保存方法】 溶液はガラスビンに分注して-20°C（遮光）で 6~12 ヶ月は保存可能です。ストック溶液はピンク色に変色したら使用しないで下さい。

◆大腸菌のセレクション用には

25 mL の寒天培地あたり 50 μL の 2 % X-Gal ストック溶液を混ぜるか、プレート入れた寒天培地の表面に 2 % X-Gal ストック溶液を適量塗ります。

◆オートクレーブ後の培地に添加する場合は

培地が十分に冷えてから（42~45°C 以下）X-Gal 溶液を添加して下さい。

X-Gal

$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BrCINO}_6$

分子量 408.63

微生物用培地

LB 培地の作製

一般的なプラスミドを導入した大腸菌培養に用いられている LB 培地の作成方法をご紹介します。

ここでは塩化ナトリウムを 5 g 用いる Lennox LB 培地の組成を紹介しています。

Miller の組成では塩化ナトリウムを 10 g、Luria の組成では 0.5 g にそれぞれ変更して下さい。

1 L 用レシピ

使用する試薬

| 試薬 | 使用量 | 製品番号 | 販売取扱 |
|---------------------|------|-----------------------|------|
| トリプトン | 10 g | T7293 | S |
| イーストエクストラクト (酵母エキス) | 5 g | Y1625 | S |
| 塩化ナトリウム | 5 g | S7653 | S |

手順

1. 上記の試薬をビーカーまたはフラスコに入れ、蒸留水 1 L を静かに入れてスタークーなどを利用してよく混ぜます。粉が底に貼りついたり、塊がないようにします。(ここで完全に溶解する必要はありません)

◆正確に培地の濃度を調製するには

1 L 弱の水を入れ、pH 調製後にメスシリンダーなどで 1 L にメスアップします。

2. オートクレーブ可能な容器を用いて、121°Cで 15 分間オートクレーブします。

◆分注や培地への植菌などは

標準的な無菌状態 (バーナーをつけながらの作業) で行います。

【保存方法】未開封の液体培地は冷蔵で保存できますが、特に抗生素質を入れている場合は、早めに使用します。



便利な調製済み製品のご紹介

| 製品名 | 特長 | 製品番号 | 販売取扱 |
|------------------------------|---|-----------------------|------|
| LB 培地 (Lennox) ^{※1} | 粉末 20 g で培地 1L 分 | L3022 | S |
| | EZMix™ 粉末 ^{※3} 1 袋 (10.3 g) で培地 500 mL 分 | L7658 | S |
| | 錠剤 1錠で培地 50 mL 分 | L7275 | S |
| LB 培地 (Miller) ^{※2} | 粉末 25 g で培地 1 L 分 | L3522 | S |
| | 顆粒 25 g で培地 1 L 分 | 71753 | M |
| | 溶液 調製済み溶液 | L2542 | S |

※1 Lennox の組成は塩化ナトリウム 5 g

※2 Miller の組成は塩化ナトリウム 10 g

※3 顆粒状

販売取扱について :

カタログ番号を青で表記および販売取扱に M と記載している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記および販売取扱に S と記載している製品の取扱いはシグマアルドリッヂャパン合同会社となります。ご確認の上、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

www.sigma-aldrich.com/japan

シグマアルドリッヂャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

LB 寒天培地（LB アガーブ地）の作製

LB 寒天培地を 50～60 枚作成する方法をご紹介します。

1 L 用レシピ

使用する試薬

| 試薬 | 使用量 | 製品番号 | 販売取扱 |
|--------------------|------|-----------------------|------|
| トリプトン | 10 g | T7293 | S |
| イーストエクストラクト（酵母エキス） | 5 g | Y1625 | S |
| 塩化ナトリウム | 5 g | S7653 | S |
| 寒天（アガー） | 15 g | A1296 | S |

手順

- 上記の製品をビーカーまたはフラスコに入れ、蒸留水 1 L を静かに入れてスターーラーなどを利用してよく混ぜ、粉が底に貼りついたり、塊がないようにします。（ここで完全に溶解する必要はありません）
- オートクレーブ可能な容器を用いて、121℃で 15 分間オートクレーブします。
- オートクレーブ後、50℃近くまで自然冷却します。必要に応じて抗生物質を加え、泡立たないよう穏やかに水平に回すように混ぜます。
- 培地が温かいうちに滅菌されたプレートなどに入れ、室温で冷まして固まるまで静置します。

【保存方法】寒天培地は 4℃で保存可能ですが、できるだけ早く使用します。

便利な調製済み製品のご紹介

| 製品名 | 特長 | 製品番号 | 販売取扱 |
|--------------------------------|--|-----------------------|------|
| LB 寒天培地 (Lennox) ^{※1} | 粉末 35 g で培地 1 L 分 EZMix TM 粉末 ^{※3} 1袋(17.8 g)で培地 500 mL 分 | L2897 | S |
| | 錠剤 1錠で培地 50 mL 分 (50 mL の水に溶解) | L7533 | S |
| LB 寒天培地 (Miller) ^{※2} | 粉末 40 g で培地 1 L 分 | L7025 | S |
| | 粉末 37 g で培地 1 L 分 | L3147 | S |
| | | 71752 | M |

※1 Lennox の組成は塩化ナトリウム 5 g

※2 Miller の組成は塩化ナトリウム 10 g

※3 顆粒状

TB 培地の作製

TB 培地 (Terrific Broth) は栄養豊富な培地で、大腸菌の培養に用いられます。LB 培地と比べ細胞密度が高くなります。

1 L 用レシピ

使用する試薬

| 試薬 | 使用量 | 製品番号 | 販売取扱 |
|---------------------------|-------|-------------------------|----------|
| トリプトン | 12 g | T7293 | S |
| イーストエクストラクト (酵母エキス) | 24 g | Y1625 | S |
| グリセロール | 8 mL | G5516 | S |
| リン酸水素二カリウム (K_2HPO_4) | 9.4 g | 24-5240 | S |
| リン酸二水素カリウム (KH_2PO_4) | 2.2 g | P9791 | S |

手順

- トリプトン 12 g、イーストエクストラクト 24 g、リン酸水素 2 カリウム 9.4 g、リン酸 2 水素カリウム 2.2 g をビーカーまたはフラスコに入れ、蒸留水 900 mL を静かに入れてスターラーなどを利用してよく混ぜます。
- グリセロール 8 mL を加えてよく混ぜます。
- 蒸留水を加えて、1 L にメスアップします。
- オートクレーブ可能な容器を用いて、121°Cで 15 分間オートクレーブします。
- 抗生素質を添加する場合は、オートクレーブ後の培地が十分冷えた状態で必要量の抗生素質を無菌的に添加し、よく混ぜます。

便利な調製済み製品のご紹介

| 製品名 | 特長 | 製品番号 | 販売取扱 |
|-------|--|-----------------------|----------|
| TB 培地 | 顆粒 培地 1 L に製品 47.6 g を使用 | 71754 | M |
| | EZMix ^{※1} 培地 1 L に製品 48.2 g とグリセロール 8 mL を使用 | T9179 | S |
| | 溶液 調製済み溶液 フィルター滅菌済み | T5574 | S |

※1 顆粒状

販売取扱について :

カタログ番号を青で表記および販売取扱に **M** と記載している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記および販売取扱に **S** と記載している製品の取扱いはシグマアルドリッヂャパン合同会社となります。ご確認の上、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

www.sigma-aldrich.com/japan

シグマアルドリッヂャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

SOC 培地の作製

SOC 培地は、大腸菌の形質転換後の回復用培地として使用されます。

1 L 用レシピ

使用する試薬

| 試薬 | 使用量 | 製品番号 | 販売取扱 |
|------------------------|------------------|--|----------|
| 塩化ナトリウム | 0.5 g | S3014 | S |
| トリプトン | 20 g | T7293 | S |
| イーストエクストラクト (酵母エキス) | 5 g | Y1625 | S |
| 1 M 塩化カリウム溶液 | 2.5 mL | P9541 ^{※1} | S |
| 1 M 塩化マグネシウム溶液 | 10 mL | M2670 ^{※1} | S |
| 1 M 硫酸マグネシウム溶液 | 10 mL | M2643 ^{※1} | S |
| 1 M グルコース溶液 | 20 mL | G7528 ^{※1} , 346351 ^{※1} | S |
| 水酸化ナトリウム溶液 (濃度 5 N など) | 数 100 μ L 程度 | S8263 | S |

※1 本じっけんレシピ「大腸菌培養」P.3,P.4 参照

手順

- 塩化ナトリウム 0.5 g、トリプトン 20 g、イーストエクストラクト 5 g、1 M 塩化カリウム溶液 2.5 mL (または塩化カリウム 0.186 g) をビーカーまたはフラスコに入れ、蒸留水 1 L を静かに入れてスターなどをを利用してよく混ぜます。
- NaOH 溶液を適量加えて pH を 7.0 に調製します。
- オートクレーブ可能な容器を用いて、121°Cで 15 分間オートクレーブします。
- 培地が十分冷えてから、別にオートクレーブした 1M 塩化マグネシウム 10 mL、1M 硫酸マグネシウム 10 mL を無菌的に加え、よく混ぜます。
- フィルター滅菌した 1 M グルコース溶液 20 mL を無菌的に添加し、よく混ぜます。

便利な調製済み製品のご紹介

| 製品名 | 特長 | 製品番号 | 販売取扱 |
|--------|------------------|-----------------------|----------|
| SOC 培地 | 調製済み溶液 フィルター滅菌済み | S1797 | S |

じっけんの注意点！

- オートクレーブ耐性のある容器 (ガラスのフラスコまたはメディウム瓶など) をご使用下さい
- オートクレーブの際は、圧力によって膨張しますので容器のフタを若干緩めて下さい
- オートクレーブ後は容器および内容物が非常に熱くなりますので、取り扱いには十分注意して下さい
- オートクレーブ後に急に冷やすと容器が破損する恐れがありますので、自然に冷まして下さい

じつけん関連製品①

IPTG 添加が不要な自動タンパク質発現誘導システム Overnight Express™ Autoinduction System



特長

IPTG 添加タイミングを知るための菌体 OD 測定が不要

菌体にストレスを与えるくいため、高細胞密度下でタンパク質高収量を実現

pET システム以外の IPTG 発現誘導系にも適合^{※1}

※1 ラクトースがアラクトースに変換されることで発現誘導が始まるため、ラクトース透過酵素(*lacY*)やβ-ガラクトシダーゼ(*lacZ*)遺伝子を保持しているホストが必要です。

| 製品名 | 特長 | 製品番号 | 販売取扱 |
|-------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|----------|
| Overnight Express Instant LB medium | LB 培地と TB 培地から選択可能な、 水に溶けやすい顆粒タイプ | 71757 | M |
| Overnight Express Instant TB medium | | 71491 | M |

本製品の原理やラインナップはこちらから。



[IPTG 不要の自動発現システム
オーバーナイトエクスプレス](#)

じつけん関連資料

大腸菌タンパク質発現の実験フローに沿って 3 章に分け、それぞれの章で、実験開始前に知っておいていただきたいポイントや、実験条件の最適化が必要になった場合に役立つポイントなど、ポイントを 3 つずつまとめました。是非ご活用いただきたい資料集はこちらから。



[大腸菌タンパク質発現系のゴールドスタンダード
pET システム活用のポイント](#)

2016 年 6 月に開催し好評をいただいた「大腸菌タンパク質発現の基礎と pET システム活用のポイント」を解説するウェビナーの動画はこちらから。



[タンパク質発現系実験に携わる方必見！
大腸菌タンパク質発現の基礎が分かる！ウェブキャスト（動画）](#)

販売取扱について：

カタログ番号を青で表記および販売取扱に M と記載している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記および販売取扱に S と記載している製品の取扱いはシグマアルドリッヂャパン合同会社となります。ご確認の上、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

www.sigma-aldrich.com/japan

シグマアルドリッヂャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

抗生物質

大腸菌にプラスミド DNA を導入する際、目的のプラスミド DNA が導入された大腸菌だけを選別するために、抗生物質を用います。これはあらかじめプラスミド DNA に、ある特定の抗生物質に対する薬剤耐性遺伝子を組み込んでおくことで、そのプラスミド DNA で形質転換された抗生物質の耐性を示して生存することを利用したセレクションです。また、ベクターによって抗生物質が発現誘導のスイッチとして利用されます。

アンピシリン溶液の調製

1. アンピシリンナトリウム塩 (Ampicillin sodium salt) を蒸留水に 100 mg/mL の濃度に溶かします。
2. 0.22 µm のフィルター (カタログ番号 [SLGV033RS](#)) を用いて滅菌します。

目安となる使用時の濃度 : 100 µg/mL

カナマイシン溶液の調製

1. カナマイシン硫酸塩 (Kanamycin sulfate) を蒸留水に 10 mg/mL の濃度に溶かします。
2. 0.22 µm のフィルター (カタログ番号 [SLGV033RS](#)) を用いて滅菌します。

目安となる使用時の濃度 : 50 µg/mL

クロラムフェニコール溶液の調製

1. クロラムフェニコール (Chloramphenicol) をエタノールに 5~20 mg/mL の濃度に溶かします。
- 目安となる使用時の濃度 : 170 µg/mL

テトラサイクリン溶液の調製

1. 塩酸テトラサイクリン (Tetracycline hydrochloride) を蒸留水に 10 mg/mL の濃度に溶かします。
 2. 0.22 µm のフィルター (カタログ番号 [SLGV033RS](#)) を用いて滅菌します。
- (注意) 塩酸塩ではないテトラサイクリンは水に溶けません。エタノールに可溶です。

目安となる使用時の濃度 : 50 µg/mL

関連製品一覧

| 製品名 | 状態 | CAS 番号 | 製品番号 | 販売取扱 |
|--------------------------|------------------------|------------|------------------------|------|
| アンピシリン | ナトリウム塩 | | A0166 | S |
| | 固体 | 69-52-3 | 171254 | M |
| | γ線滅菌済 固体 | | 171255 | M |
| | フィルター滅菌済 溶液 (100mg/mL) | | A5354 | S |
| カナマイシン硫酸塩 | 固体 | 25389-94-0 | K1377 | S |
| | 溶液 (50mg/mL) | | 420311 | M |
| | | | K4000 | S |
| クロラムフェニコール ^{※1} | 粉末 | 56-75-7 | C0378 | S |
| | | | C1919 | S |
| | | | 220551 | M |
| テトラサイクリン塩酸塩 | 固体 | 64-75-5 | 58346 | M |
| | 粉末 | | T7660 | S |
| | 溶液 (10mg/mL) | 60-54-8 | 87128 | S |

※1 エタノールで溶解させる抗生物質

関連製品一覧 (続き)

| 製品名 | 状態 | CAS番号 | 製品番号 | 販売取扱 |
|----------------|-----------------------------------|-------------|------------------------|------|
| カルベニシリン | 2ナトリウム塩 粉末 | 4800-94-6 | C3416 | S |
| | 溶液 (100 mg/mL) | | 69101 | M |
| シクロスボリンA | 固体 | 59865-13-3 | C1613 | S |
| | 粉末 | | 239835 | M |
| シクロヘキシド | 固体 | 66-81-9 | C1832 | S |
| | フィルター滅菌済 溶液 (100 mg/mL) | | 239763 | M |
| ストレプトマイシン | フィルター滅菌済 溶液 (100 mg/1.185 mL) | 3810-74-0 | 239764 | M |
| | 硫酸塩 固体 | | C4859 | S |
| スペクチノマイシン | 硫酸塩 粉末 | 22189-32-8 | 239765 | M |
| | 硫酸塩 溶液 (50 mg/mL) | | 508739 | M |
| ドキシサイクリンハイクレート | 2塩酸塩 固体 | 24390-14-5 | 567570 | M |
| | 2塩酸塩 粉末 | | S9007 | S |
| ハイグロマイシンB | 溶液 (100 mg/mL) | 31282-04-9 | S0692 | S |
| | 粉末 | | D9891 | S |
| ピューロマイシン | 固体 | 58-58-2 | 400050 | M |
| | 粉末 | | H3274 | S |
| リファンピシン | 溶液 | 13292-46-1 | 400051 | M |
| | フィルター滅菌済 溶液 (50 mg/mL) | | 400052 | M |
| G418 | フィルター滅菌済 溶液 (45-60 mg/mL) | 108321-42-2 | 400053 | M |
| | 2塩酸塩 固体 | | H0654 | S |
| クロラムフェニコール | 2塩酸塩 Streptomyces alboniger 由来 粉末 | 13292-46-1 | 540222 | M |
| | 2塩酸塩 溶液 (10 mg/mL) | | 540411 | M |
| リファンピシン | 2塩酸塩 フィルター滅菌済 溶液 (10 mg/mL) | 108321-42-2 | P8833 | S |
| | 固体 | | 508838 | M |
| クロラムフェニコール | 粉末 | 56-75-7 | P9620 | S |
| | 2硫酸塩 粉末 | | 557303 | M |
| G418 | 2硫酸塩 フィルター滅菌済 溶液 | 56-75-7 | R8883 | S |
| | 2硫酸塩 フィルター滅菌済 溶液 (リン酸緩衝生理食塩水) | | A1720 | S |
| クロラムフェニコール | | | 345810 | M |
| | | | 345812 | M |
| クロラムフェニコール | | | 508940 | M |
| | | | 509227 | M |
| クロラムフェニコール | | | C1919 | S |
| | | | 220551 | M |

販売取扱について :

カタログ番号を青で表記および販売取扱に M と記載している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記および販売取扱に S と記載している製品の取扱いはシグマアルドリッヂジャパン合同会社となります。ご確認の上、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

www.sigma-aldrich.com/japan

シグマアルドリッヂジャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

じっけん関連製品②

抗生素質の滅菌にも

ろ過滅菌用シリンジフィルターの定番 滅菌マイレクス のご紹介

活性を下げずに抗生素質をはじめとする有機化合物を滅菌するには、ろ過滅菌が最適です。水溶液のろ過滅菌には、分子が吸着しにくい「滅菌マイレクス GV」をお勧めします。マイレクス GV に使用されている親水性 PVDF (デュラポア) は、最もタンパク質吸着の少ないメンブレンのひとつです。

| 製品名 | 特長 | 直径 | 孔径 | 入数 | カタログ番号 | 販売取扱 |
|------------|-------------------------------|-------|---------|-----|---------------------------|------|
| 滅菌マイレクス-GV | 親水性 PVDF (デュラポア) タンパク質極低吸着 | 33 mm | 0.22 µm | 50 | SLGV033RS | M |
| | | | | 250 | SLGV033RB | M |

コスト面で有利な「滅菌マイレクス GS」、目詰まりしにくい「マイレクス GP」、また、DMSO やエタノールなどの有機系溶媒に溶けた薬剤の滅菌には、多くの化学薬品に適合性を持つ「滅菌マイレクス LG」をご使用下さい。

普段何気なく行っている「ろ過」。わずかな工夫やちょっとした知識で、ろ過実験の作業効率はぐっと高まります！
半世紀もの歴史を持つメンブレンメーカーならではの「ろ過」に関するノウハウは、こちらから。



ろ過・フィルターのすべて
[Filter Quest - フィルタークエスト](#)

大腸菌の形質転換

形質転換はいくつかのバクテリアに見られる水平的な遺伝子の転移プロセスで、外部の遺伝的物質を取り込む作業です。この遺伝子転移は生きている細胞は必要とせず、環境中の DNA のみ必要とされます。形質転換は、肺炎レンサ球菌を用いた 1928 年のグリフィフの実験で初めて報告され、DNA の形質転換については 1944 年のアベリーとマクラウドとマッカーティの実験により実証されました。

バクテリアが形質転換によって外部の遺伝的物質を取り込むためには事前の準備が必要で、この状態になることはコンピテントと呼ばれます。自然においてコンピテントになる条件は属によって様々です。形質転換因子 (DNA) が細胞質に取り込まれた後、バクテリア DNA と異なっている場合はヌクレアーゼによって分解されることがあります。バクテリア DNA と似ている場合は、染色体に融合されることもあり、またはプラスミドとして保たれることもあります。

人工的に DNA をバクテリアに導入する容易な方法としてヒートショックとエレクトロポレーションが知られています。ヒートショックはバクテリアを冷やした状態から急激に加熱すると細胞膜に穴が生じることを利用して、DNA を取り込みます。エレクトロポレーションは、電気的な刺激によって細胞膜に穴を開ける方法です。エレクトロポレーションの方が多くのコロニーが生じやすいとされていますが、クローニングの場合ヒートショック法が多く利用されています。

ヒートショック法

準備① 作製

コンピテントセル LB 培地または SOC 培地 LB 寒天培地

準備② 道具

15 mL 遠心チューブを氷冷しておく

ヒートブロックまたはウォーターバスを 42°C に温めておく

手順

1. あらかじめ作製したコンピテントセルの 1 つのチューブと導入する DNA 溶液 (インサート DNA をライゲーションしたプラスミド)、またはコントロール溶液を氷上に深く差し入れて静置します。
細胞の融解時間の目安 : 5~10 分
2. あらかじめ氷冷した 15 mL 遠心チューブ (製品番号 **SIAL0791**) を氷上に置き、3~4 μL の DNA 溶液 (またはコントロール) を各チューブに入れます。
3. 95 μL のコンピテントセルを各反応液に入れ、氷上で 20 分間インキュベートします。 (45 分間までは OK)
4. ヒートブロックまたはウォーターバスで 42°C、90 秒間ヒートショックします。
5. 抗生物質を含まない 1 mL の LB 培地 (製品番号 **L3022, L2542, L3522, 71753**) または SOC 培地 (製品番号 **S1797**) でヒートショック後の細胞を 37°C で振とう (227 rpm) しながら 1 時間インキュベート。
6. 適切な抗生物質を含む LB 寒天培地にインキュベートした培養液をすべて撒きます。
7. 乾きやすいようにプレートのふたをわずかにずらしてフードまたは 37°C インキュベーターに 5~10 分間置きます (フードを使う場合はコンタミを防ぐため哺乳動物細胞用のフードは使用しない)。
8. プレートのふたを閉めて 37°C で一晩インキュベートします。生じたクローン (コロニー) に目的の形質転換体が含まれていると期待され、その後の実験に使用します。

www.sigma-aldrich.com/japan

シグマアルドリッヂ ジャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

改変ヒートショック法

準備① 作製

コンピテントセル LB 培地または SOC 培地 LB 寒天培地

準備② 道具

ヒートブロックまたはウォーターバスを 37°C に温めておく

手順

- あらかじめ作製したコンピテントセルの 1 つのチューブと導入する DNA 溶液 (インサート DNA をライゲーションしたプラスミド)、またはコントロール溶液を氷上に深く差し入れて静置します。
細胞の融解時間の目安 : 5~10 分
- 2~5 μ L の DNA 溶液 (またはコントロール) を 100 μ L のコンピテントセルが入ったチューブに入れ、すばやくピペットチップの先でかき混ぜます (上下のピペッティングはしません)。
- 氷上で 15 分間インキュベート (45 分間までは OK)。
- ヒートブロックまたはウォーターバスで 37°C、3 分間ヒートショックします。
- 抗生素質を含まない 1 mL の LB 培地 (製品番号 **L3022, L2542, L3522, 71753**) または SOC 培地 (製品番号 **S1797**) でヒートショック後の細胞を 37°C で振とう (227 rpm) しながら 15 分間インキュベート
- 適切な抗生素質を含む LB 寒天培地に、インキュベートした培養液をすべて撒きます。
- 乾きやすいようにプレートのふたをわずかにずらして、フードまたは 37°C インキュベーターに 5~10 分間置きます (フードを使う場合は、コンタミを防ぐため哺乳動物細胞用のフードには使用しない)。完全に乾きすぎないように注意します。
- プレートのふたを閉めて 37°C で一晩インキュベートします。生じたクローン (コロニー) に目的の形質転換体が含まれていると期待され、その後の実験に使用します。



2017 年 7 月改訂

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのであらかじめご了承ください。記載価格に消費税は含まれておりません。本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Sigma-Aldrich Co. LLC の登録商標もしくは商標です。本誌記載の内容は 2017 年 7 月時点の情報です。© 2017 Sigma-Aldrich Co. LLC. All rights reserved.

シグマ アルドリッヂ ジャパン

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

www.sigma-aldrich.com/japan

シグマ アルドリッヂ ジャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

製品に関するお問い合わせは、弊社テクニカルサポートへ
TEL : 03-6756-8245 FAX : 03-6756-8302
E-mail : sialjpts@sial.com

在庫照会・ご注文方法に関するお問い合わせは、弊社カスタマーサービスへ
TEL : 03-6756-8275 FAX : 03-6756-8301
E-mail : sialjpcs@sial.com