

ユーザーインストラクション：グリセロールストック

ベクター情報をVectorBuilderホームページからダウンロード

ベクター固有のベクターIDはストックチューブのラベルに印刷されています。ベクターマップ、シークエンス、ベクターを構成するそれぞれのコンポーネントの詳細は、VectorBuilderのホームページ (www.vectorbuilder.jp) "ベクター情報を見る" からご確認ください。紙の使用量を削減し、森林資源の節約にご協力ください。



保存方法

ベクターは常温で大腸菌のグリセロールストック（15%グリセロール）として納品されています。チューブを開ける際は、コンタミネーションを避けるため、チューブを軽く遠心してチューブキャップに付着した液体をスピンドアウンしてください。また納品形状のまま、直接-80°Cでの長期保存が可能です。なおグリセロールストックの4°Cでの保存は、2週間以下の短期間に限定してください。

大腸菌培養

納品されているグリセロールストックの大腸菌はシングルコロニー由来です。そのため適切な抗生物質を添加したLB液体培地で培養できます。しかし直接液体培養を行った場合、DNAの回収率が落ちることがあります。この場合は改めてストックから数μlを取り、適切な抗生物質が添加されたLBプレートに線画培養し、フレッシュなシングルコロニーを抗生物質の添加されたLB培地に植え、液体培養を行ってください。それでもDNAの回収量がまだ低い場合は、適切な大腸菌コンピテンセルに形質転換を行い、シングルコロニーを拾って液体培養を行ってください。オリジナルのグリセロールストックからシングルコロニーを使って次の作業に進む場合、ごくまれですがそのコロニーのベクターに変異が起きていることもあります。そのため、複数個のコロニーをピックアップして、プラスミド抽出を行い、サンガーシークエンシングや制限酵素処理で正しいクローンを確認することをお勧めします。

室温のグリセロールストックから大腸菌をイノキュレートするには、1マイクロリットルを取り、適切な抗生物質を添加したLB液体培地に加えてください。グリセロールストックから数マイクロリットルを取り、適切な抗生物質が添加されたLBプレートに線画培養し、フレッシュなシングルコロニーから抗生物質の添加されたLB液体培養を行ってもかまいません。

凍結グリセロールストックから大腸菌をイノキュレートするには、無菌のピペットチップで凍結面を少し掻きとって、液体培地にチップをイジェクトしてください。

特に大きなインサートを持つベクターや、反復配列、GCコンテンツの高いベクターは大腸菌培養の際にプラスミドのリアレンジメントを行って、インサートの欠失などを起こすことがあります。もし特異なプラスミドをもつ大腸菌を培養される場合は、プレートや液体培地での培養温度を37度ではなく、30度に下げても可能です。

抗生物質濃度

ストックチューブのラベルに、ベクターが耐性を持つ抗生物質名をプリントしています。指定された抗生物質をLBプレートまたは液体培地に下の濃度で添加し大腸菌を培養してください。

Ampicillin: 100 μg/ml
Kanamycin: 50 μg/ml
Chloramphenicol: 34 μg/ml
Tetracycline: 5 μg/ml
Streptomycin: 50 μg/ml

ホスト大腸菌株

ストックチューブラベルに記されているホスト大腸菌株をご確認ください。弊社納品物は、ベクターシークエンスの安定性が優れているため、VB UltraStable™が使われていることが殆どです。実験目的によっては、適切な大腸菌株を使う必要があり、その場合はVB UltraStable™からプラスミドを調整し、適切な遺伝子型のホスト大腸菌にトランスフォームする必要があります。例えば、pETベクターは、組み換えタンパク質の発現の際は、T7 RNA polymerase遺伝子を含んでいるDE3を持っている、BL21 (DE3) ホストにトランスフォームしてからお使いください。

VB UltraStable™ 遺伝子型

F' [Δ ccdAB proAB+ lacIq lacZ Δ M15 zcf::Tn10 (TetR)] recA1 endA1 fhuA mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) Φ 80dlacZ Δ M15 Δ (ara, leu)7697 araD139 Δ lacX74 galK16 galE15 e14- relA1 nupG rpsL (StrR) rph spoT1