

# Rhodococcus erythropolis L88 Competent Cells

製品コード：RE-L88

※ 本製品は国立研究開発法人産業技術総合研究所よりライセンスを受け、北海道システム・サイエンス株式会社が製造・販売しています。

## 1. 製品説明

*Rhodococcus erythropolis* L88株は*Rhodococcus erythropolis* JCM3201株に対してUV照射により点突然変異を導入した株であり、高いリゾチーム感受性を示します。通常、野生株は1 mg/ml 以上のリゾチームに耐性を有しますが、*R. erythropolis* L88 株では12.5 µg/ml のリゾチームにて溶菌を起こすことが可能です。そのため、細胞破砕が容易になりタンパク質の抽出および精製が野生株と比べて容易となります。また、本株は4℃から30℃で生育を示し、4℃という低温条件下で外来遺伝子のコードするタンパク質を発現産生させることが可能です。それに伴い、中高温で発現させると「宿主細胞にとって致死性があるタンパク質」、「宿主細胞の増殖を阻害するタンパク質」および「封入体を形成し凝集するタンパク質」など、大腸菌では発現させることが困難であった組換えタンパク質の発現が期待できます。

## 2. 製品内容

*R. erythropolis* L88 Competent Cells

容量： 500 µl (100 µl × 5本)

保存： -80℃

※ 注意：保存は-80℃以下で行ってください。温度管理が不安定な場合など保存状況により、形質転換効率が低下する場合がございます。

## 3. 形質転換効率

*R. erythropolis* L88 Competent Cells 100 µl を用い、pCpiRC2 プラスミド 100 ng で形質転換後、クロラムフェニコール添加プレートにて培養を行った場合、 $> 1 \times 10^4$  colonies/µg pCpiRC2 プラスミドの効率を得ました。

## 4. 使用方法

### エレクトロポレーションを用いた形質転換

1. *R. erythropolis* L88 Competent Cells を使用直前に、氷上にて融解する
2. 融解後、タッピングにて混合し、均一化する
3. 50-200 ng のプラスミド DNA を入れる
4. 氷上で30分間放置する
5. エレクトロポレーターによる形質転換  
形質転換条件・・・1mm キュベットの場合、1.6 kV, 25 µF, 400Ω  
※ 使用するキュベットサイズに応じて Competent Cells 量を調整してください。
6. 形質転換後の溶液を1 ml LB 培地に添加する
7. 28℃で60分間振盪培養する
8. 適当な抗生剤が入った LB 寒天培地に、培養液 50-200 µl を塗布する  
※ 使用するベクター量に応じて塗布量を調整してください  
<抗生剤終濃度>  

<i>R. erythropolis</i> の場合	・テトラサイクリン 5 µg/ml
	・クロラムフェニコール 20 µg/ml
9. 28℃で静置培養する  
※ 通常2～3日でコロニーが形成されますが、実験条件によっては1週間程度の時間を要する場合がございます。

## 4. 使用方法（続き）

### 使用上の注意項目

- ・ *R. erythropolis* L88 株の形質転換効率は一般的な大腸菌と比べて低いことから、ベクター構築等のクローニング用ホストとして使用することができません。ベクター構築の際は、大腸菌を宿主として発現ベクターを構築し、精製したプラスミドを *R. erythropolis* L88 株に導入されることを推奨致します。
- ・ 関連商品である pTip、pNit、pCpi Vector シリーズは、宿主とする大腸菌株によってはプラスミドが不安定になる場合がございます。推奨株は、DH5aおよび XL1-blue となります。
- ・ *R. erythropolis* L88 株は構築ベクターの脱メチル化処理を行う必要はございません。

## 5. トラブルシューティング

形質転換効率が低い場合は、下記項目を検討頂くことで改善できる場合がございます。

- a. 使用する Competent Cells 量を増やす
- b. プラスミド量を増やす
- c. 形質転換後の培養工程にて培養時間を 2 時間にする

## 6. 参考文献

- 1) Mitani et al. "Characterization of LtsA from *Rhodococcus erythropolis*, an enzyme with glutamine amidotransferase activity." *Journal of bacteriology* 187.8 (2005): 2582-2591.

## 7. 注意点

- ・ 本製品の再販、改変、商用製品の製造をすることは禁止させていただきます。
- ・ 弊社の許可なく、本製品を第三者に譲渡することは禁止させていただきます。
- ・ 基礎研究用途以外の目的で本製品のご利用はおやめください。
- ・ ご注文に際しまして、別途「ライセンス同意書」をご提出頂く必要がございます。

## 8. 関連製品

ロドコッカス属細菌発現ベクター

- ・ pTip Vector シリーズ (code:RE-0001 ~ RE-0008)
- ・ pNit Vector シリーズ (code:RE-0009 ~ RE-0016)
- ・ pCpi Vector シリーズ (code:RE-0017 ~ RE-0024)

 Hokkaido System Science Co., Ltd.

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

 0120-613-190

TEL:011-768-5901 FAX:011-768-5951

Email:goods@hssnet.co.jp

URL:<http://www.hssnet.co.jp>

AAGCTTGGAATATTAAGTGAACAGGGAA  
AAAGGATACAACAAAAGGGAAGAACTTAGAG  
AR-150831-01  
ATTCCTGATATAATTCTCTAGAAA

