

## プラスミドへ IS による変異が入りにくいコンピテントセル DynaCompetent Cells LowInSeq

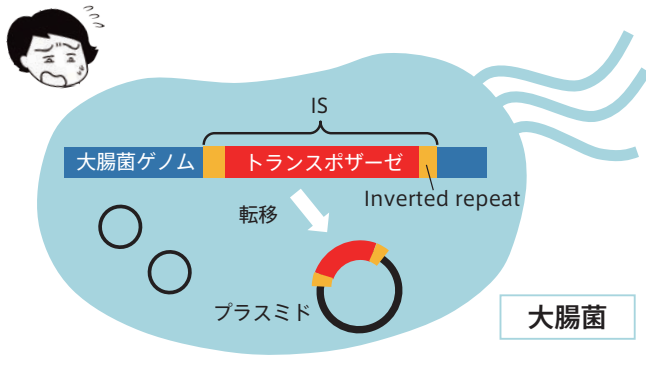
日本初!  
ゲノム編集済み  
大腸菌

ゲノム中の DNA 型転移因子 (IS : Insertion sequence element) の活性を低下させた大腸菌コンピテントセルです。プラスミド調製を確実に行うことができます。大腸菌にとって負荷がかかる、大きなコンストラクトのクローニングに有用です。

※本製品は(株)バイオレットの特許技術である“切らないゲノム編集<sup>®</sup>” Target-AID<sup>®</sup> を用いて共同開発されました (p.4~5 参照)。

## MEMO

### プラスミドの大腸菌への導入・増幅時にはこんな問題が起きています



動き回る遺伝子と呼ばれる、大腸菌ゲノム内に存在する IS (Insertion sequence element) 遺伝子がプラスミドを傷つけている可能性があります！

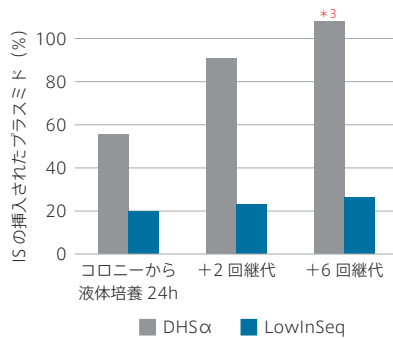
#### IS とは？

大腸菌ゲノム中に存在する「動き回る遺伝子」です。IS 自身が移動する際に使われる酵素トランスポザゼを持っており、トランスポザゼにより IS はゲノムから切り出され、ほかの部位に挿入されます。IS が目的のインサート部分、プロモーターそのほかの部分に挿入されることにより、目的のインサートが壊れる、正常な発現をしない、プラスミドのコピー数が変化するなどの問題が生じる可能性があります。

### 特長

- 本製品は DH5α を元株として、大腸菌ゲノム中の IS のうち、IS2, IS5, IS10, ISEc63 (類似配列) のトランスポザゼ翻訳領域中に Target-AID<sup>®</sup> (p.4~5 参照) を用いて終止コドンを導入し、IS の活性を低下させた<sup>\*1</sup> 大腸菌コンピテントセルです。
- いつものプラスミド調製を確実に行うことができます。
- 大腸菌にとって負荷がかかる、大きなコンストラクトなどのクローニングに有用です。
- 形質転換効率： $>1 \times 10^8$  CFU/μg (pUC19)
- ※1 IS の活性は低下しているものの、IS が転移しないことを保証するものではありません。

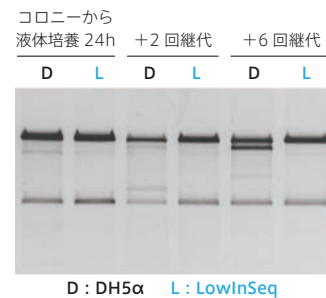
### プラスミドへの IS 挿入が減少



#### プラスミドに対する IS 挿入頻度の低下の確認

本製品および大腸菌 DH5α 株をアンピシリン耐性プラスミド (30 kb, pUC Ori) で形質転換後、24 時間液体培養し、さらに 6 回まで継代培養を行った。上記それぞれの培養時にプラスミドを精製し、HiSeq でのシーケンシングを行い、プラスミドのうち IS<sup>\*2</sup> の挿入されたものの概算比率を推定した<sup>\*3,4</sup>。DH5α 株に対して本製品ではプラスミドへの IS の挿入が抑制された。

- \*2 IS : IS1, IS2, IS3, IS4, IS5, IS10, IS30, ISEc5, IS609, ISEc63 の合計数。
- \*3 DH5α 株は+6 回継代培養時点で計算上 100% を越えており、1 つのプラスミドに 2 つ以上の IS が挿入されたことが示唆される。
- \*4 別途、DH5α 株に同プラスミドを挿入し、6 回の継代培養後 9 クロウンを単離し、サンガーシーケンシングを行ったところ、すべてのクロウンに ISEc63 類似配列が挿入されており、プラスミドへの IS 挿入率の高さが裏付けられた。



D : DH5α L : LowInSeq

左記のプラスミドを BamHI で消化し、アガロースゲル電気泳動を行った。本プラスミドの BamHI サイトは 2 つであり、本来 2 本のバンドが生じるが、継代回数を重ねることにより DH5α 株ではバンドパターンに変化が確認された。プラスミドへの IS の挿入が示唆される。一方、本製品で継代したプラスミドでは、バンドパターンの変化が抑制されていた。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
DynaCompetent Cells LowInSeq	BDL	DS410	10×100 μl / 39,000
		-80°C	10×1 ml SOC medium 付属。