

1. チューブ2本（ピンク・白）（形質転換溶液  $250\mu$  1入）を氷上に置く。



2. 大腸菌を、プレートからそれぞれ新しいループを使用して直径1mmのコロニーを釣菌し、両方のチューブにそれぞれ加える。



3. 氷上に5分間静置する。



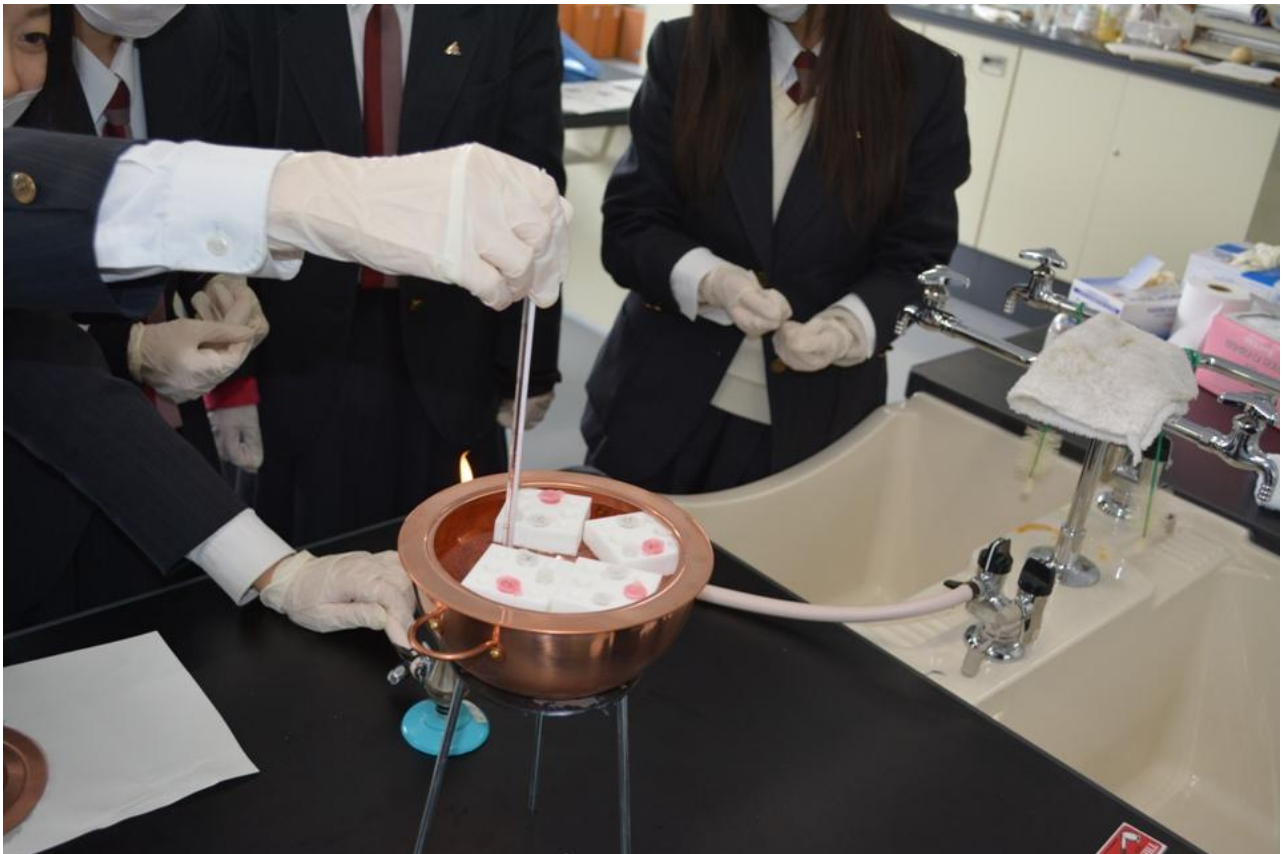
4. 組み換えを起こすチューブ（ピンク）にプラスミド溶液  $50\mu\text{l}$  を、新しいピペットを使用して全量加えて混ぜる。



5. 氷上に10分間静置する。



6. 両方のチューブをチューブラックに挿入した状態で、42℃に設定したお湯に1分間浸し、直ちに氷上に戻して2分間静置する、



7. SOC培地（緑色キャップ）を新しいピペットを使用して、260 $\mu$ lずつ両方のチューブに加えて混ぜる。



8. 37 $^{\circ}$ Cのインキュベーターで10分間静置する。

9. 新しいピペットを使用して、それぞれの大腸菌混合液をそれぞれのプレートへ130 $\mu$ lずつ植菌する。

白チューブ・組み替えなし（LBプレート1枚・LB/ampプレート1枚）

ピンクチューブ・組み替え有り（LB/ampプレート1枚）

10. それぞれ新しいコンラージ棒を使用して、プレート全体に大腸菌混合液を広げる。



11. プレートを逆さまにして、37°Cのインキュベーター内で24時間以上静置して培養する。

