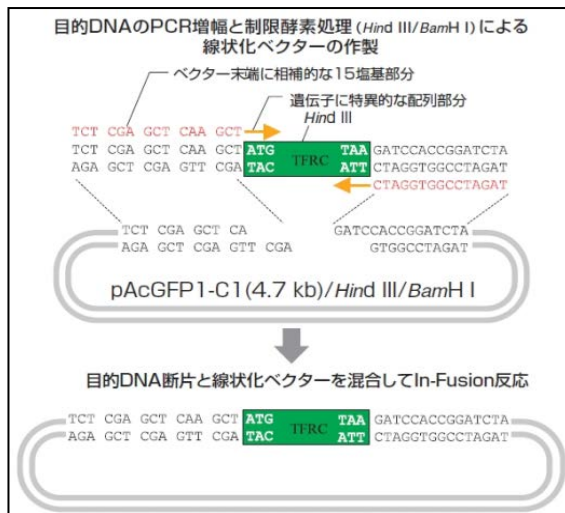


タイトル: インサート内に制限酵素サイトがある場合のディレクショナルクローニング(In-Fusion反応)

カテゴリ: クローニング
 キーワード: クローニング、In-Fusion、制限酵素
 データソース: BIOVIEW No.56

方法:

pAcGFP1-C1(4.7 kb)をHind III とBamH I で切断後ゲル精製を行い、線状化ベクターを調製した。目的DNA断片(2.3 kb、TFRC のORF)はHL 60 由来のcDNA を鋳型に、ベクターの末端領域に相補的な15塩基を5'端に有するプライマー(39 mer、39 mer)を用いてPrimeSTAR® Max でPCR 増幅した。シングルバンドを確認後、PCR 産物をIn-Fusion® Advantage PCR Cloning Kit w/Cloning Enhancer 付属のCloning Enhancer で処理し、目的DNA断片溶液2 μl と線状化ベクター100 ng を用いてIn-Fusion クローニングを行った。形質転換にはE. coli HST08 PremiumCompetent Cells を使用した。



結果:

In-Fusion 反応液の1/5量を播種した結果、766個の形質転換体コロニーを取得した。任意にピックアップしたクローンについて、コロニーPCRによりインサートチェックを行った結果、12クローン中11クローンで目的サイズのDNAのクローニングが確認された。



備考:

In-Fusion® HD Cloning Kit w/Cloning Enhancer (製品コード [639633](#))*
 E. coli HST08 Premium Competent Cells (製品コード [9128](#))

* In-Fusion® Advantageキットシリーズは終売しました。プレミックス化や反応時間短縮でさらに便利になった In-Fusion® HD クローニングキットシリーズをご利用ください。