

タイトル: In-Fusion反応におけるインサートサイズとクローニング効率

カテゴリ: クローニング

キーワード: クローニング、In-Fusion® HD、インサートサイズ、クローニング効率

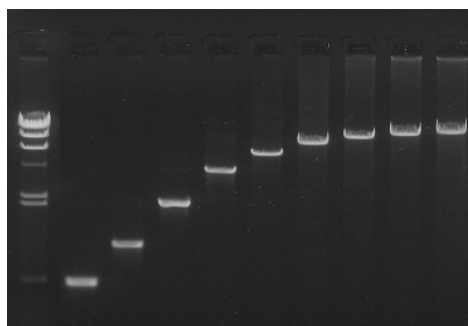
データソース: タカラバイオ株式会社

方法:

In-Fusion® HD Cloning Kit w/NucleoSpin® (製品コード [639639](#)) を用いて、インバースPCRで増幅したベクター2.7 kbに0.5 kbから15 kbのPCR増幅断片を挿入するIn-Fusion反応を行った。各DNA断片のPCR増幅にはPrimeSTAR® GXL DNA Polymerase (製品コード [R050A](#)) を使用し、増幅産物をNucleoSpin®カラムで精製後、ベクター50 ngとインサートDNA 50 ngをIn-Fusion反応に使用した。形質転換には*E. coli* HST08 Premium Competent Cells (製品コード [9128](#)) を使用した。

PrimeSTAR® GXLで増幅した精製済PCR産物(50 ng)

0.5 1 2 4 6 8 10 12 15 kb

**結果:**

0.5 kbから15 kbのインサートサイズと形質転換体の数を以下の表に示した。ベクター50 ngに対しインサートを50 ng反応させることで15 kbまでのインサートを含む形質転換体を十分な効率で取得することができた。

| Kit | Vector 50 ng | Insert 50 ng | Colonies plating 1/5 | Insert check |
|--------------------------|--------------|--------------|----------------------|--------------|
| In-Fusion HD Cloning Kit | pUC19 | 0.5K | 17920 | 10/10 |
| | | 1K | 20800 | 10/10 |
| | | 2K | 12960 | 10/10 |
| | | 4K | 6400 | 10/10 |
| | | 6K | 2256 | 7/10 |
| | | 8K | 2528 | 9/10 |
| | | 10K | 808 | 7/10 |
| | | 12K | 872 | 10/10 |
| | | 15K | 904 | 10/10 |

備考: