

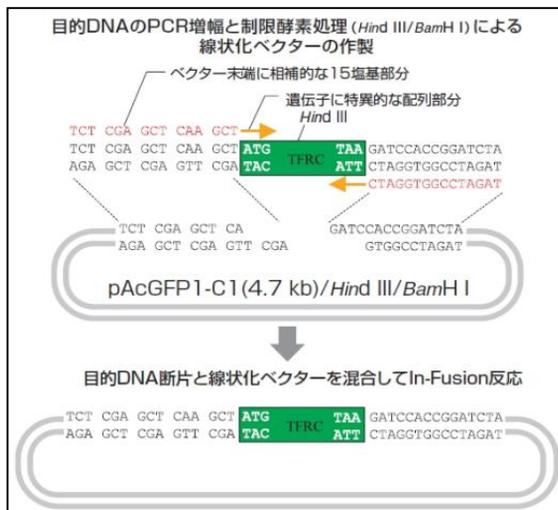
インサート内に制限酵素サイトがある場合のディレクショナル クローニング(In-Fusion反応)

No. CLI_002

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: タカラバイオ株式会社

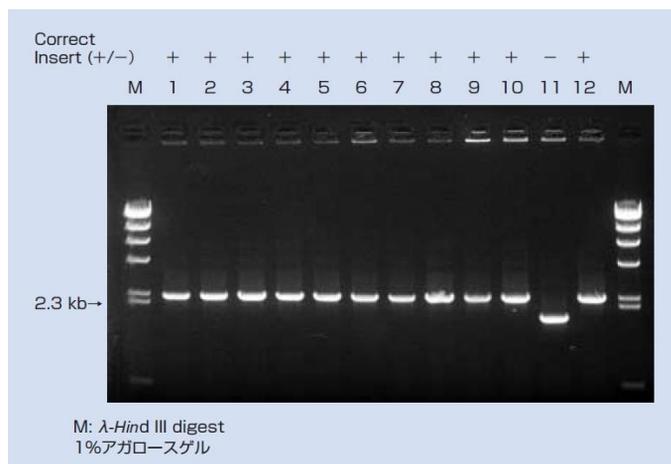
方法:

pAcGFP1-C1 (4.7 kb) を *Hind* III と *Bam* HI 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 Premium Competent 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。



関連製品:

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。