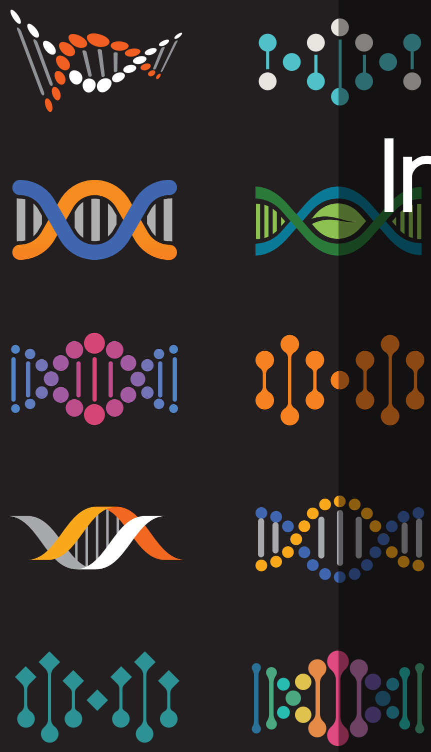
ver. 201601



In-Fusion® HD Cloning

The Right Clone Every Time

The Original	Fusion PCR Cloning의 원조
No Limits	Any Vector, Any Insert, Any Site
Time-saving	단 15분만에 반응 완료
Highly Efficient	연구자들이 직접 검증한 고효율 Cloning

TaKaRa

Clontech TaKaRa cellartis

In-Fusion® HD Cloning

주요 특징

10년 이상 축적된 노하우	• Fusion PCR Cloning의 원조 (since 2002) • 연구자들이 인정한 최고 효율의 PCR cloning kit
Any vector, any insert, any site	• 제한효소 사이트 관계 없이 원하는 위치에 삽입 • Shuttle vector 불필요 : expression vector에 바로 cloning • Large vector (cosmid: ~46 kb), large insert (~15 kb)도 효율적인 cloning
빠르고 간편한 cloning	• Modify 불필요 : A-tailing, 제한효소, alkaline phosphatase 불필요 • Directional cloning : insert 방향성 유지 • No frame shift : 불필요한 염기추가 없음
탁월한 cloning 효율	• Cloning 효율 극대화 : false positive의 확률 낮음 • Multiple fragment cloning, mutagenesis에 최적

In-Fusion® HD Cloning Flow Chart

1-1. Insert 준비

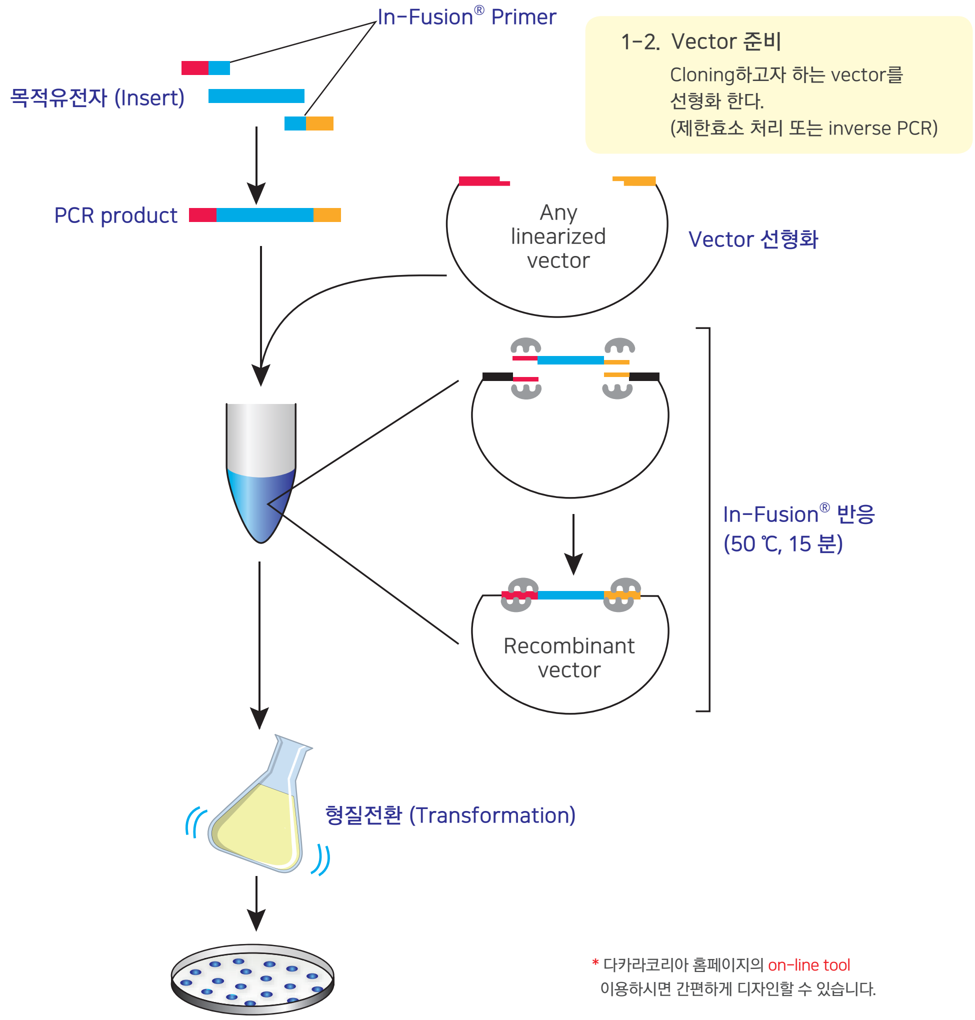
Vector 양쪽 말단 15 bp와 상동 서열을 가진 In-Fusion® primer*로 insert를 증폭한다.
<CloneAmp™ HiFi PCR Premix>

2. 증폭된 insert (PCR product)와 선형화한 vector를 정제한다.
<NucleoSpin® 또는 Cloning Enhancer>

3. Insert와 선형화된 vector로 In-Fusion® 반응 한다.
<In-Fusion® HD Enzyme Premix>

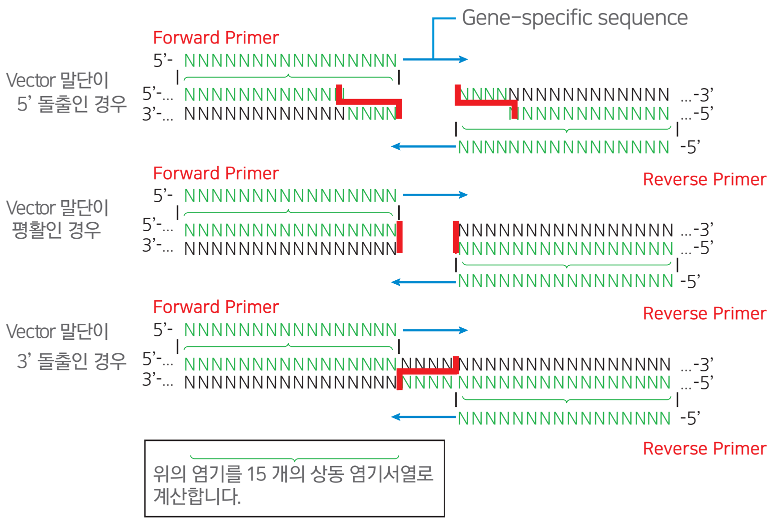
4. 형질전환 한다.
<Stellar™ Competent Cells>

5. 배양하여 colony를 분석한다.



* 다카라코리아 홈페이지의 on-line tool 이용하시면 간편하게 디자인할 수 있습니다.

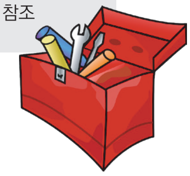
In-Fusion Ready Insert 준비 – insert 양 말단에 vector 서열을 부가하기 위한 In-Fusion® primer 디자인



Insert DNA를 증폭하기 위한 Primer 3' 부분 디자인 (Gene-specific sequence)

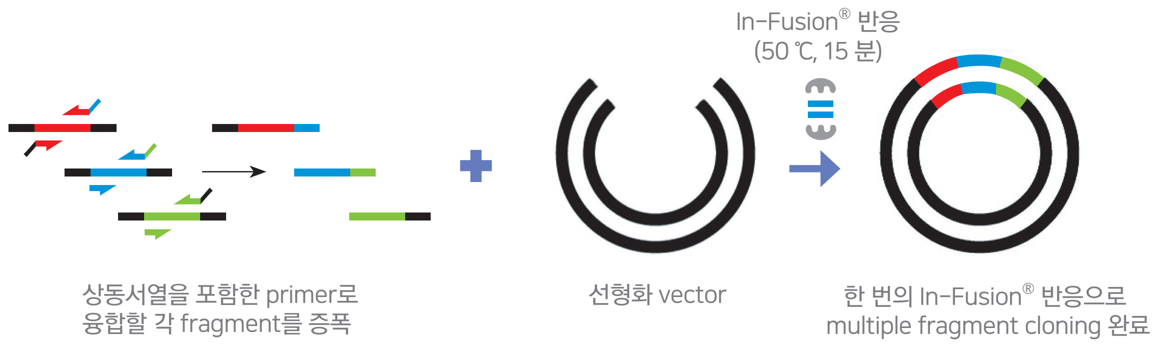
- 길이 = 18 – 25 bp
- GC함량 = 40 – 60 %
- Tm = 58 – 65 ℃

* 세부 사항 매뉴얼 참조

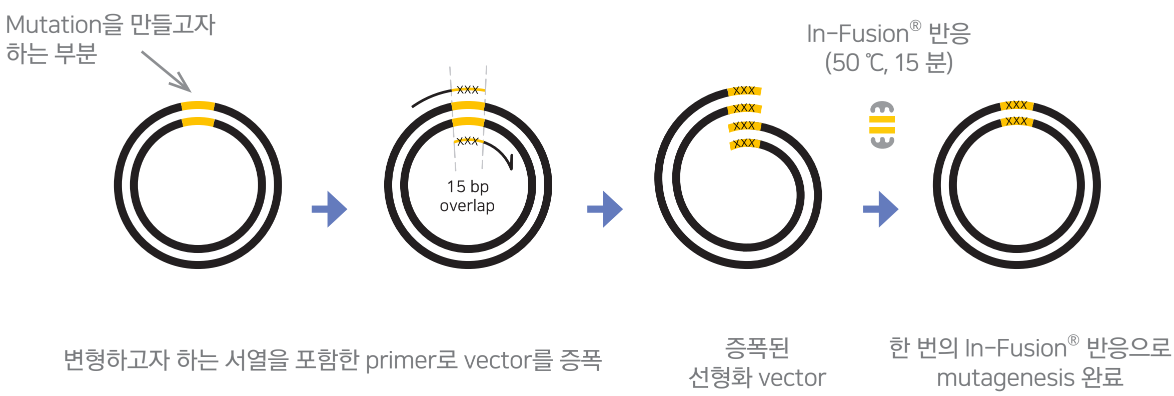


In-Fusion® HD Cloning Application

Multiple Fragment Cloning – 여러 개의 insert를 한번에 vector에 삽입하기



Site-directed Mutagenesis – 간단한 mutation 만들기



다카라코리아 홈페이지에서 더 많은 응용사례를 만나보세요!

완벽한 Cloning을 위한

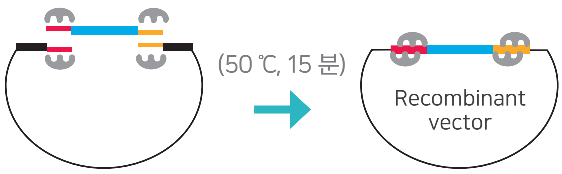
In-Fusion® HD Cloning Plus
(Code 638909 외)

In-Fusion® HD Cloning Plus는
성공적인 cloning에 필요한 모든 구성품을 포함하고 있습니다.

In-Fusion® HD Cloning의 핵심

In-Fusion® HD Enzyme Premix

- 15 분이면 vector와 insert의 융합 완료



완벽한 PCR product 정제 = Cloning의 효율 향상

NucleoSpin® / Cloning Enhancer (별도 구매 시 Code 639613)

- NucleoSpin® In-Fusion® ready insert 정제를 위한 1차 추천
- Cloning Enhancer Insert가 single band로 증폭된 경우에 사용

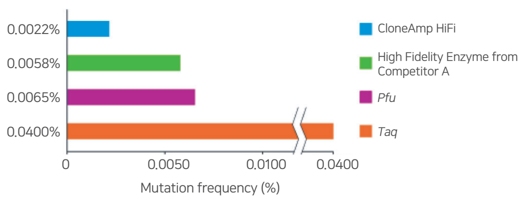
* Cloning Enhancer는 In-Fusion® HD Cloning Plus CE (Code 638916)의 구성품입니다.

목적유전자의 정확한 증폭을 위한 PCR 효소

CloneAmp™ HiFi PCR Premix (별도 구매 시 Code 639298)

- 높은 정확도의 hot start PCR 효소
- 빠른 반응속도 (Extension: 5 sec/kb)
- GC-rich 또는 최대 10 kb의 단편 합성 가능

< 타 PCR 효소와의 정확도 비교 >



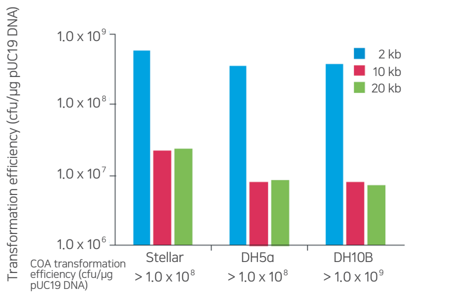
* 10 kb 이상 DNA 단편의 증폭은 PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase (Code R050A) 사용 권장

Cloning의 성공비결은 Competent Cells

Stellar™ Competent Cells (별도 구매 시 Code 636763)

- 높은 형질전환 효율을 가진 *E.coli* strain (> 5 x 10^8 cfu/µg)
- 일반적인 cloning은 물론 large fragment cloning에 최적
- cDNA 및 gDNA library 제작, blue/white screening에 추천

< 주요 Competent cells와의 형질전환 효율 비교 >



- 큰 사이즈의 plasmid일수록 타 strain 대비 높은 형질전환 효율

In-Fusion® HD Cloning 사용자의 생생한 후기를 전해 드립니다!

제한효소 사이트로부터 자유로워요!

제한효소 사이트를 찾지 않아도 되니 너무 좋아요! 만약에 제한효소 사이트가 있어도 어차피 더블컷을 하게 되면 효율에도 문제가 생기고...

연세대학교 이OO 선생님

Multiple fragment cloning을 하고 있는데 insert에 제한효소 처리 없이 cloning 할 수 있어서 너무 좋아요. 그래서 또 구매할 생각 이예요.

인하대학교 김OO 선생님

이제는 multiple fragment cloning도 자신 있습니다!

세 개의 insert로 multiple fragment cloning 진행 후 75%이상의 positive clone을 얻었어요. 타 제품 대비 매우 우수합니다!

충남대학교 김OO 선생님

Vector : 6 kb
Insert : 2 kb + 2.6 kb + 2 kb

Cloning 디자인부터 실험까지의 과정이 매우 간편해서, 정말 빠르게 결과를 얻을 수 있었습니다.

Vector : 6 kb
Insert : 2.6 kb + 2.6 kb + 2.6 kb

서울대학교 김OO 선생님

Speed and accuracy as well as easiness of this application have convinced me to purchase this product again.

MIT Dr. Braun

Vector : 10.8 kb
Insert : 453 bp + 1002 bp

기존에 해오던 cloning방식보다 훨씬 좋아요!

랩에서 진행해오던 기존의 cloning 방법보다 시간도 단축되고 효율도 높아서 만족해요. 또 PrimeSTAR PCR 효소로 mutation 없이 정확하게 PCR되어 cloning 되니 귀찮았던 cloning 실험에 속도가 붙어요.

숙명여자대학교 신OO 선생님

기존에 진행하던 방법으로 cloning 실험에 애를 먹고 있었는데, In-Fusion으로 모두 해결했습니다! 특히 kit의 PCR 효소와 competent cells를 이용하는 것이 큰 도움이 되었습니다. 타 제품 대비 효율 인정합니다!

중앙대학교 이OO 선생님

긴 insert, 짧은 vector도 거뜬해요!

바이러스 vector cloning과 같이 긴 insert를 짧은 vector에 cloning하는 게 정말 어려웠는데, In-Fusion은 정말 쉬워요. 안 되던 cloning을 쉽게 끝냈습니다.

연세대학교 이OO 선생님

Vector : 2.6 kb
Insert : 9.6 kb

Vector : 1 kb
Insert : 8.5 kb

국내외 연구자의 더 많은 사용후기를 만나보세요!
www.takara.co.kr/in-fusion

본 사용후기는 2015년 In-Fusion® HD Cloning 피드백 이벤트 신청자로부터 동의를 받아 공개하는 자료입니다. 소중한 경험을 공유해주신 선생님들께 감사 드립니다.

In-Fusion® HD Cloning 제품리스트

Code	제품명	용량	구성품		
			PCR효소	정제*	Cells
638909	In-Fusion® HD Cloning Plus	10 회	O	NS	O
638916	In-Fusion® HD Cloning Plus CE	10 회	O	CE	O
639642	In-Fusion® HD Cloning w/Competent Cells	10 회	-	-	O
639648	In-Fusion® HD Cloning Kit	10 회	-	-	-
638912	In-Fusion® HD EcoDry Cloning Plus	8 회	O	NS	O
639678	In-Fusion® HD EcoDry Cloning Kit w/Competent Cells	8 회	-	-	O
639689	In-Fusion® HD EcoDry Cloning Kit	8 회	-	-	-
In-Fusion® HD cloning 성공을 위한 별매품					
639298	CloneAmp™ HiFi PCR Premix	200 회	Insert의 PCR 증폭		
639613	Cloning Enhancer	25 회	PCR 잔여물 제거		
636763	Stellar™ Competent Cells	10 회	고효율의 형질전환용 *E.coli*		

* PCR product 정제 방법 (NS: NucleoSpin®, CE: Cloning Enhancer)
※ 다카라코리아 홈페이지에서 다양한 제품 확인이 가능합니다.

FAQ

Q In-Fusion® Primer의 vector와의 상동서열은 15 bp 이상 혹은 이하로 디자인 가능한가요?
A In-Fusion® HD Cloning은 15 bp의 상동서열을 융합하는 데에 최적화되어 있으며, 12 bp 이하 또는 21 bp 이상의 상동서열을 포함하는 primer 디자인은 권장하지 않습니다.

Q In-Fusion® HD EcoDry Cloning 제품의 특징은 무엇인가요?
A In-Fusion® HD EcoDry Cloning 제품은 동결건조 상태의 In-Fusion® Premix가 분주되어 있어, 샘플 수가 많은 실험에 적합합니다.
In-Fusion® HD EcoDry Cloning 효소의 반응시간은 30 분 입니다.

Q In-Fusion® 반응 시 최적의 vector와 insert의 첨가량은 얼마인가요?
A 일반적으로 vector : insert = 1 : 2 비율 (molar ratio)을 권장하며, multiple fragment cloning 시에도 같은 비율을 유지합니다.
예를 들어 insert의 개수가 3개인 경우 vector : insert A : insert B : insert C = 1 : 2 : 2 : 2로 반응합니다. Vector와 insert의 길이에 따른 최적의 양을 계산해주는 온라인 툴이 제공되고 있습니다. 다카라코리아 홈페이지의 온라인 툴을 이용하시기 바랍니다.

Q 다른 *E.coli* competent cells를 사용할 수 있나요?
A 성공적인 In-Fusion® HD Cloning을 위해서는 Stellar™ Competent Cells의 사용을 권장합니다.
다른 competent cells를 사용 시 효율이 저하될 수 있습니다. 또한 다음과 같은 strain의 사용은 권장하지 않습니다.
recA1 유전자의 결손 또는 *endA* 유전자의 변이가 있는 *E.coli* strain
특정 목적으로 개발된 *E. coli* strain (예: 단백질 대량 발현 등)
그람 양성 박테리아
nupG (*deoR*) 유전자의 변이가 있는 박테리아

Q 짧은 길이의 합성 oligonucleotide도 In-Fusion® HD Cloning을 사용할 수 있나요?
A 네, 15 bp의 상동서열을 포함하는 50 bp 이상의 합성 oligonucleotide라면 가능합니다. 이와 같은 경우에는 oligo와 vector의 반응 비율을 5 15 : 1로 합니다.