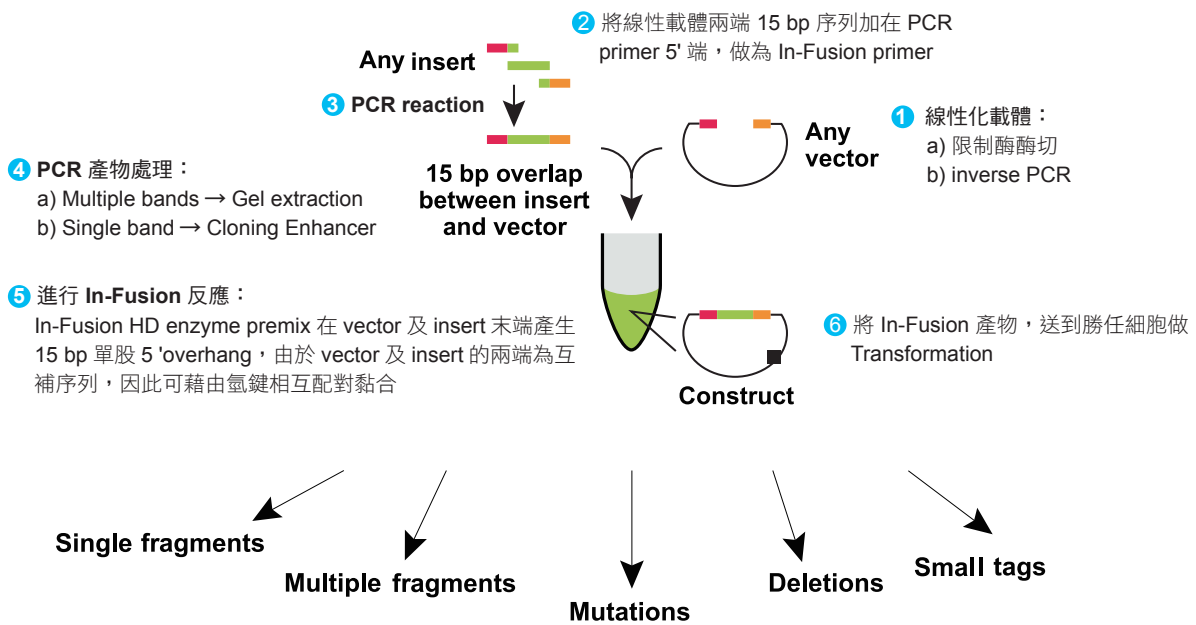


In-Fusion CLONING



COMPLETE CLONING SUCCESS IN JUST TWO DAYS

The fastest, most efficient way to clone.



Online Tools for In-Fusion Cloning



全面升級新版 Primer Design Tool

改版的 In-Fusion Cloning Primer Design Tool 讓您輕鬆設計出 single-insert cloning、multiple-insert cloning 及 site-direct mutagenesis 實驗所需的 In-Fusion primers



Molar Ratio 計算機

計算出 In-Fusion 反應中最合量的 vector 及 insert 濃度 (ng)

Product	Cat. #	Size	In-Fusion HD Enzyme Premix	CloneAmp HiFi PCR Premix	Stellar Competent Cells	NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up Kit	Cloning Enhancer
In-Fusion® HD Cloning Plus	638909	10 Rxns	✓	✓	✓	✓	
	638910	50 Rxns	✓	✓	✓	✓	
	638911	100 Rxns	✓	✓	✓	✓	
In-Fusion® HD Cloning Plus CE	638916	10 Rxns	✓	✓	✓		✓
	638917	50 Rxns	✓	✓	✓		✓
	638918	100 Rxns	✓	✓	✓		✓

In-Fusion 常見問答集



Q1. In-Fusion Cloning 的作用機制？

A1. In-Fusion Cloning 需要讓線性化 vector 及 insert 的末端皆帶有 15 bp homologous overlap 序列，藉由 In-Fusion enzyme 的特性讓這兩者的末端變成單股 5' overhangs。由於 vector 及 insert 的兩端為互補序列，因此可藉由氫鍵配對黏合，重組的環狀 construct 在 *E.coli* 中進行 gap 的修補。

Q2. Homologous overlap 序列只能加 15 bp 嗎？

A2. 短於 12 bp 或長於 21 bp 的 overlap 都會降低 cloning 的效率。經過測試，single-fragment cloning 最適的 overlap 長度為 15 bp，而 multiple-fragment cloning 最適的 overlap 長度為 20 bp。

Q3. 使用的 vector 和 insert 末端結構有限制嗎？

A3. 沒有特別的限制，無論是 blunt end、sticky end 或是末端有無 A tail 均可進行 In-Fusion Cloning。

Q4. 線性化 vector 末端是否需要進行去磷酸化處理？

A4. 不需要，線性化 vector 末端磷酸根的存在並不會影響 In-Fusion Cloning 的效率。

Q5. In-Fusion Cloning 實驗中 insert to vector molar ratios?

A5. 建議比例如下，需依實際實驗狀況做調整：

Cloning type	Insert to vector molar ratios
Single-fragment	2:1
Multiple-fragment	2:2:1(最小的 insert 勿低於 20 ng)
Small DNA fragments (150-350 bp)	3-5:1
Short synthetic oligos (50-150 bp)	5-15:1

Q6 : vector 和 insert 的長度限制？

A6. 原廠測試過的條件：

Vector	32.6–36 kb adenoviral vectors, 46 kb cosmids
Large insert	15 kb
Small insert	50 bp synthetic oligonucleotide (including two 15-nt homologous overlaps)

Simplify Cloning

Single-tube protocol

Site-Directed Mutagenesis

Tagged Protein Applications

15 min