

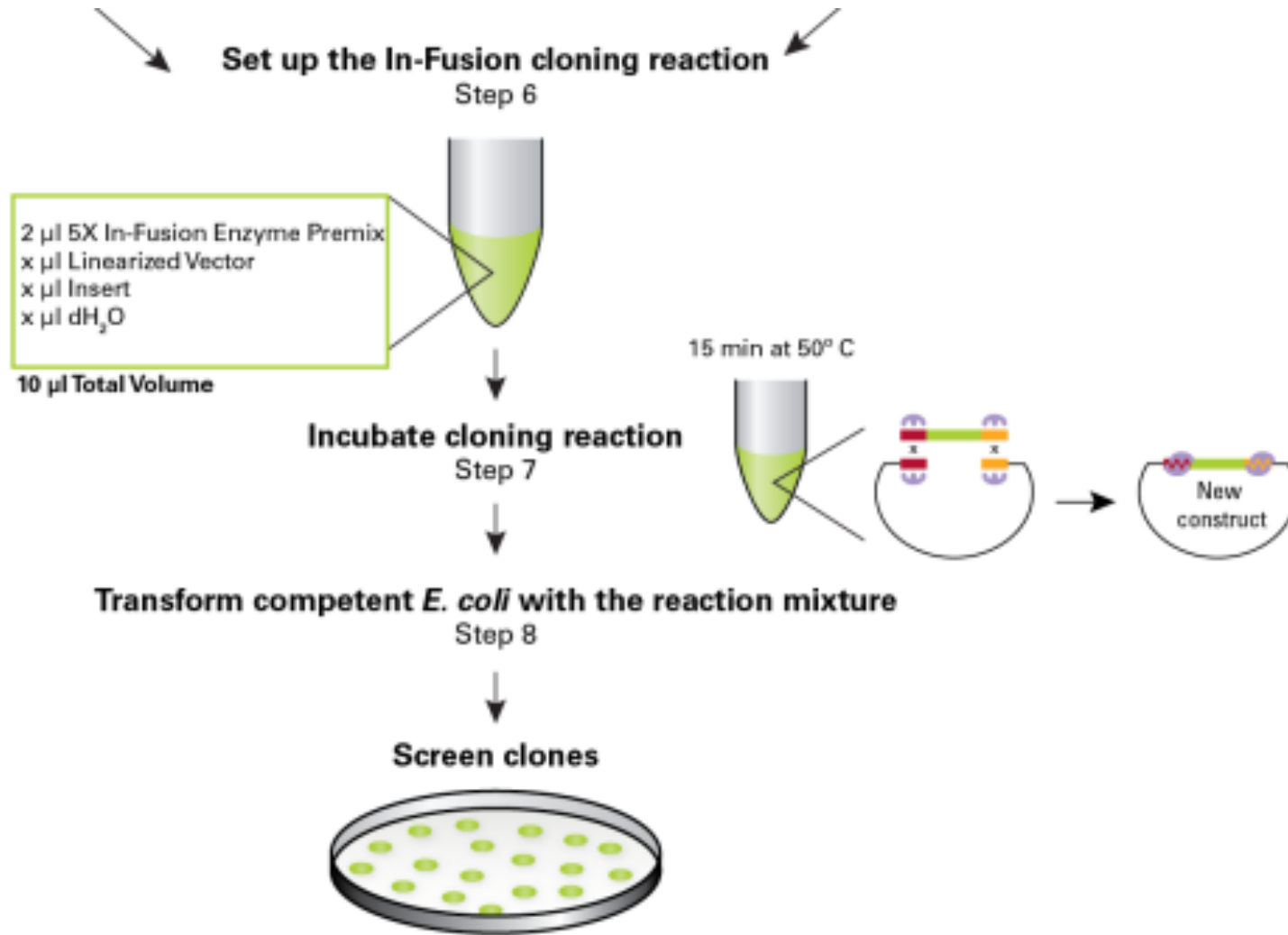


# IN-FUSION CLONTECH

TRABALHO REALIZADO POR:

ANDRÉ PINA N°49360, CARMEN OLIVENÇA N°49355, GONÇALO AFONSO N°49358, MARIANA ARAÚJO N°49226





TÉCNICA

Figura 1. Demonstração da técnica In-Fusion Clontech

# VANTAGENS E DESVANTAGENS

## Vantagens:

- Sem necessidade de enzimas de restrição;
- Clonagem de qualquer inserção em qualquer vetor;
- Ampla gama de tamanhos de fragmento;
- Clonar múltiplos fragmentos de DNA simultaneamente;
- Construções finais sem pares de bases extras;
- Os reagentes necessários estão no kit e faz uso de uma enzima específica.

## Desvantagem:

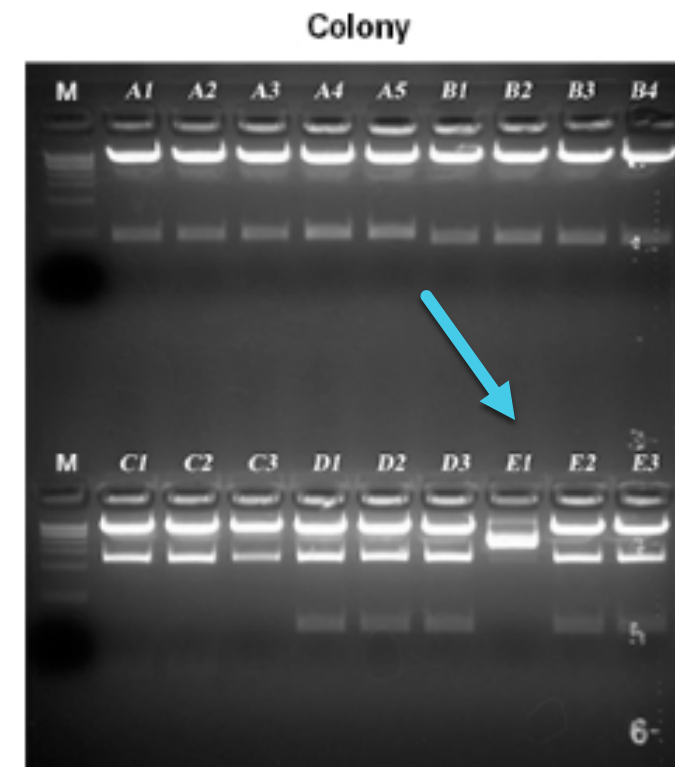
- Difícil identificar-se erros de clonagem, se não se tiverem gerado recombinantes.



# LENTIVÍRUS

Yang, Jun, In-Fusion Cloning: overcoming restriction site limitations in lentiviral vectors.

- Cinco inserções de tamanho entre 400 pb a 1,6 kb foram amplificadas por PCR para incorporar extremidades 5' e 3' específicas concebidas para clonagem no vetor lentiviral de destino (8 kb).
- As inserções foram clonadas no vetor linearizado com enzimas In-Fusion e transformadas nas células competentes fornecidas, com eficiência muito alta.
- Os clones positivos foram identificados, por triagem de três a cinco colônias cada, com digestão por restrição.



**Figura 3.** Digestão de Restrição de clones