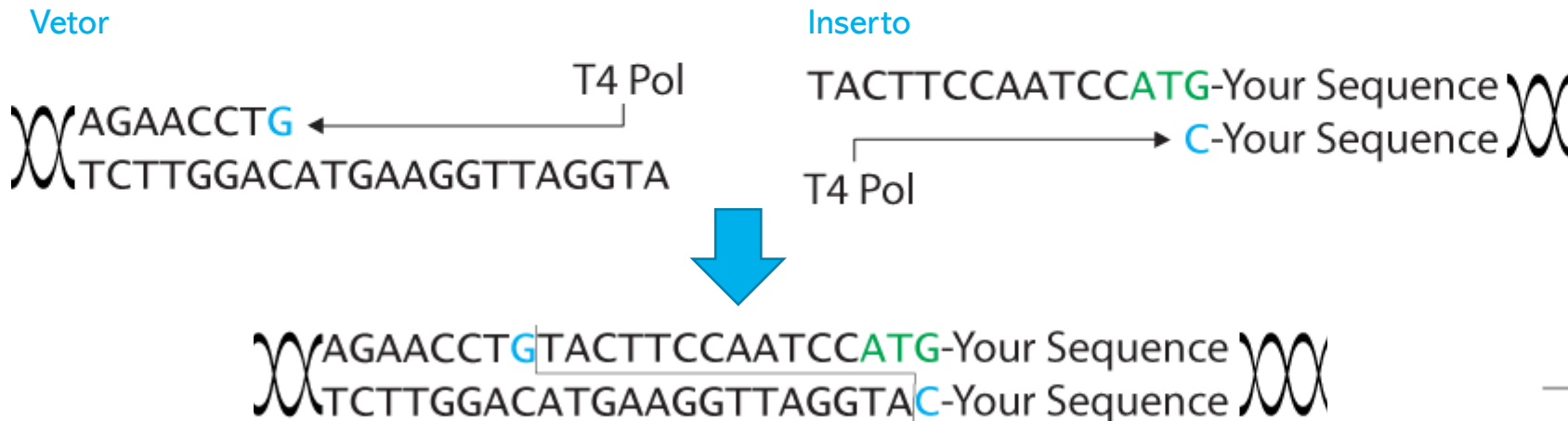
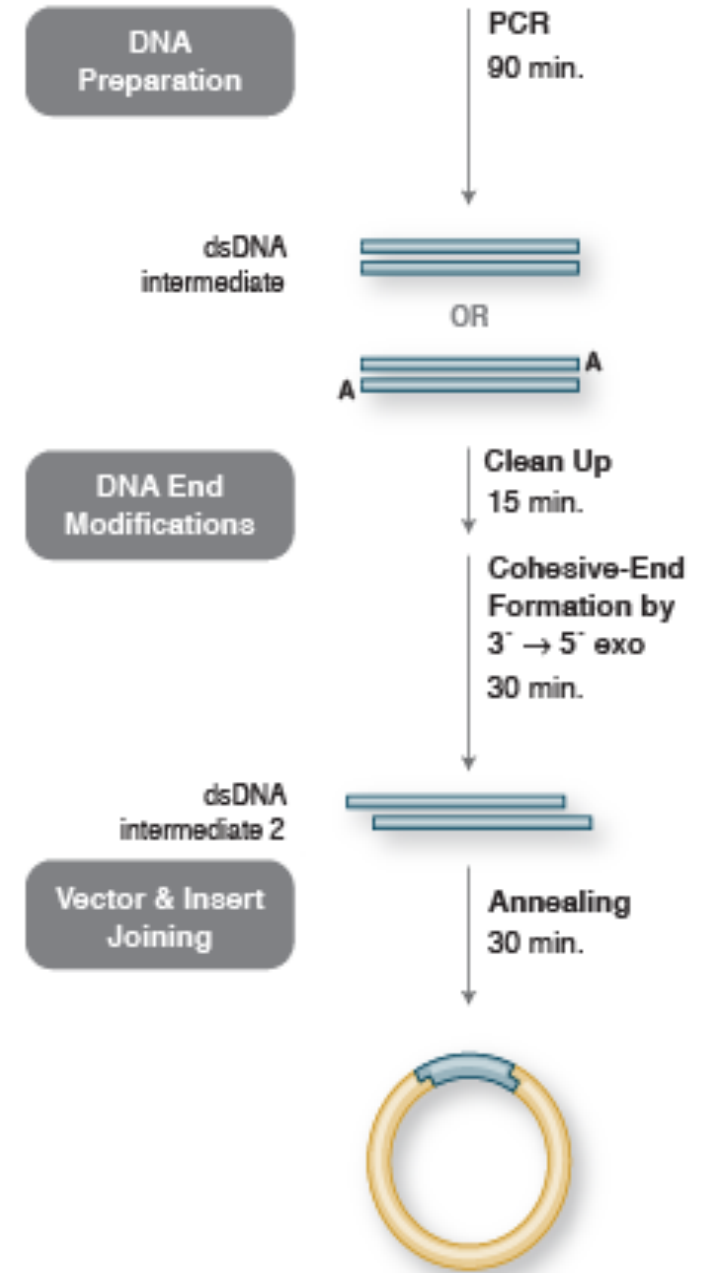
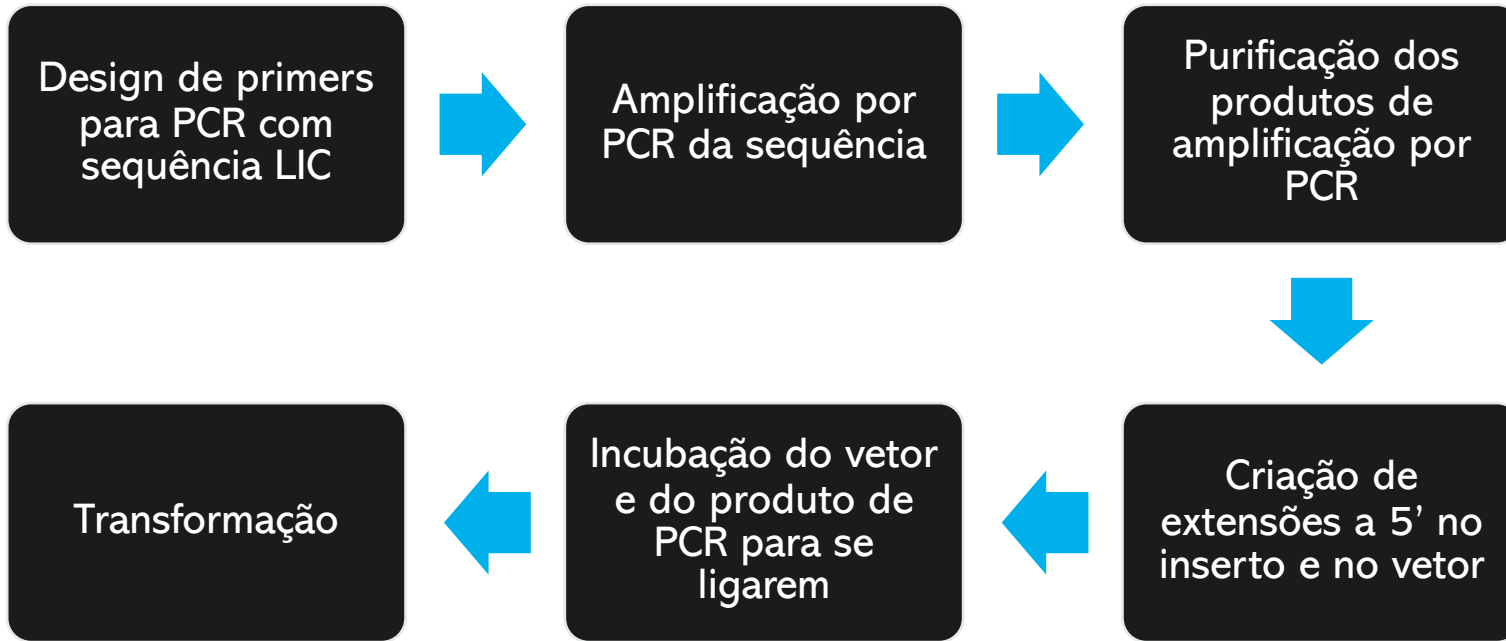




LIGATION INDEPENDENT CLONING (LIC)

Ana Barbosa (49206), Inês Baía (49270), Leonor Torcato (49007), Lúcia Albano (49237), Melissa Gonçalves (51771)

PROTOCOLO GERAL



Estimated total time
2 hr., 45 min.

ESPECIFICIDADES DO MÉTODO LIC

- ✓ Não requer: enzimas de restrição, T4 DNA ligase, fosfatase alcalina
- ✓ Baixo custo
- ✓ Escolha entre muitos vetores diferentes
- ✓ Extremidades coesivas dos vetores não são complementares
- ✓ Elevada eficiência de clonagem

- ✗ Constrangimentos da sequência: overhangs de 10-15 pb não podem conter o dNTP presente na reação
- ✗ Requer vetores específicos
- ✗ Nem todas as sequências são passíveis de sofrerem modificações
- ✗ Não permite clonar múltiplos fragmentos

EXEMPLO

A New Vector for High-Throughput, Ligation-Independent Cloning Encoding a Tobacco Etch Virus Protease Cleavage Site

Lucy Stols,* Minyi Gu,† Lynda Dieckman,† Rosemarie Raffen,† Frank R. Collart,† and Mark I. Donnelly*,¹

**Environmental Research Division and †Biosciences Division, Argonne National Laboratory, Argonne, Illinois 60439*

Received October 8, 2001



Criação de métodos altamente eficazes para estudos de cristalografia de proteínas



Vetor de expressão LIC com o local de clivagem TEV na sequência líder



Elevada eficiência de clonagem, expressão, purificação e clivagem de proteínas