



Oct 14, 2019

Insert + Vector DNA Ligation

iGEM Dusseldorf¹¹Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

1

Works for me

dx.doi.org/10.17504/protocols.io.76uhrew



iGEM Dusseldorf ⚡

ABSTRACT

Pipette mix the following components:

Double Digested DNA	ng/uL	size (kb)	bp ratio	1	3	5	I:V Ratio
AXXX Vector, linearised + dephos			#VALUE!		#VALUE!		ng insert
AXXX Gen, digested					#VALUE!		uL insert
Volume (uL)	Ratio	Insert	Vector	T4 Ligase	Water	T4 Buffer	Total
Ligation 1 Vector only	vector	0		1	17	2	20
Ligation 2 Vector + Gene ligation	3 to 1	#VALUE!		1	#VALUE!	2	20

Nur die grün markierten felder müssen ausgefüllt werden. Die Formeln berechnen das optimale 3:1 verhältnis von Vektor zu gen. Check wie viel DNA insgesamt eingesetzt wird. Vektor ist bei mir immer so um 25-30 ng und totale DNA menge überschreitet nicht 100 ng dann sollten gute ergebnisse erzielt werden.

Incubate 60 min at room temperature, and/or overnight at 16°C (*higher efficiency*).

Optional: inactivate ligase by incubating for 5 min in 70°C heat block.

Transform into E. coli



This is an open access protocol distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited