

Ligazione dell'inserto nel vettore pET22-b

Dopo aver quantificato plasmide ed inserto, calcolare la quantità di inserto e vettore per allestire la reazione di ligazione mediante T4 ligasi utilizzando la seguente equazione:

50 ng di pET22-b

$$\text{ng di inserto} = \frac{50 \text{ ng (pET22-b)} \times 0.4 \text{ (Kb inserto)}}{5.5 \text{ (Kb pET22-b)}} \times 5 \text{ (rapporto Frammento:Vettore = 5:1)}$$

... µl	inserto
... µl	pET22-b
1 µl	T4 ligasi
1.5µl	Buffer 10X
... µl	H2O
15 µl	

La reazione va lasciata overnight a 4°C.