

Astuce N°24

Comment mettre au point sa ligation rapide LigaFast™ ?

La ligation consiste à insérer un morceau d'ADN (insert) dans un vecteur en liant les extrémités 5'-phosphate et 3'-hydroxyl des nucléotides adjacents :

- Commencer son optimisation en choisissant un ratio insert:vecteur de 2:1
- Pour connaître les quantités de vecteur et insert à ajouter dans le mix réactionnel, suivez cet exemple :
- Pour un vecteur de 3kb et un insert de 0.5kb :

$$\frac{\text{ng de vecteur} \times \text{kb taille de l'insert}}{\text{kb taille du vecteur}} \times \text{ratio de } \frac{\text{insert}}{\text{vecteur}} = \text{ng de l'insert}$$
$$\frac{100\text{ng de vecteur} \times 0.5\text{kb taille de l'insert}}{3\text{kb taille du vecteur}} \times \text{ratio de } \frac{2}{1} = 33.3\text{ng de l'insert}$$

- Réalisez ce mix réactionnel (100 à 200ng maximum):

Vecteur ADN		100ng
Insert ADN		33ng
2X Rapid Ligation Buffer	5µl	
T4 DNA Ligase		1µl
Nuclease-Free Water qsp	10µl	

- Incubez la réaction à température ambiante pendant 5 min pour des extrémités cohésives ou 15 min pour des extrémités franches

Cliquer ici



Pour plus d'informations :

- LigaFast™ Rapid DNA Ligation System

Cliquer ici



Pour contacter notre support technique :

Tel. 0 800 488 000 - email. supportfr@promega.com