

Autor: Hinrik Plaggenborg

erstellt: 03.06.2019 10:40

Eintrag 1/4: Noch kein Eintragstitel

aktualisiert: 03.06.2019 11:34

In Projekt: Hinrik learn how to use Labfolder

Keine Tags verwendet

Tab2: Double Digestion fast Digest Enzymes

	Vol.
Plasmid (1,5-2 µg)	X µl
10x Restriktionspuffer (enzymabhängig)	2 µl
[RNAse (1 mg/ml)]	[2 µl]
XhoI(1U/µg Template)	1 µl
BamHI (1U/µg Template)	1 µl
H ₂ O	X µl
Vol.	20,00 µl

Incubation for 15 min by 37 °C

Autor: Hinrik Plaggenborg

erstellt: 03.06.2019 11:34

Eintrag 2/4: Noch kein Eintragstitel

aktualisiert: 03.06.2019 11:38

In Projekt: Hinrik learn how to use Labfolder

Keine Tags verwendet

Purification over Gel

Autor: Hinrik Plaggenborg

erstellt: 03.06.2019 11:38

Eintrag 3/4:

aktualisiert: 22.09.2019 14:47

In Projekt: Hinrik learn how to use Labfolder

Keine Tags verwendet

Ligation

Tab. 5: "sticky end"-Ligation

	Vol.	pNS3+L_CL_His	pNS3+L_CL
Insert-DNA	x µl	22	22
Vektor-DNA (ca 100 ng)	x µl	3	3
2x T4-fast-Ligase-Puffer	10 µl	25	25
T4-DNA-Ligase (1U)	0,2 µl	0,5	0,5
H ₂ O	x µl	0	0
Gesamt-Vol.	20,0 µl	50,5	50,5

Fast Ligation 5 min

Capture.PNG

$$\text{ng Insert} = \frac{\text{ng Vektor} \times \text{kb Insert} \times 3}{\text{kb Vektor}}$$

Autor: Hinrik Plaggenborg

erstellt: 03.06.2019 11:47

Eintrag 4/4: Noch kein Eintragstitel

aktualisiert: 22.09.2019 14:47

In Projekt: Hinrik learn how to use Labfolder

Keine Tags verwendet

Transformation:

1. De froze competent Cells on ice (200 μ L)
2. Add Ligation, mix and incubate 15 min on ice
3. 90 sec. Heatshock at 42°C<
4. Incubate 2 min on ice
5. add 800 μ l Meida without Antibiotics and incubate aerobic for 1 h
6. Plate on Agarplate with AB