

PCR muKO

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,50 µl dNTP (20 mM total)
 0,80 µl primer mu1 (200 ng/µl)
 0,30 µl primer mu2 (200 ng/µl)
 0,50 µl primer Neo55 b (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 19,20 µl distilled water

2- PCR reaction :

24,0 µl mix
 1,0 µl DNA (200ng/µl)

3- PCR program :

5 min	94°C	
1 min	94°C	35 cycles
1 min	55°C	
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer mu1 5' TAC AGC TTG GCC TGT TCT GT 3'
 - Primer mu2 5' GAG AGT CAT TTC ACC TGC AG 3'
 - Primer Neo 55 b 5' ACC GTA AAG CAC GAG GAA G 3'

5- Amplifications:

wild-type allele: 410 bp
 mutant allele: 1300 bp