

PCR Hsf2 KO

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,25 µl dNTP (20 mM total)
 0,30 µl primer Hsf2 for (200 ng/µl)
 0,15 µl primer Hsf2 rev (200 ng/µl)
 0,15 µl primer Hsf2 lacz (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 19,45 µl distilled water

2- PCR reaction :

23,0 µl mix
 2,0 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 Hsf2 for 5' GAGTGAGAATGAATCCCTTTGGAA 3'
 - Primer Hsf2 rev 5' GCTGGAAGCTTCTTACCTTCC 3'
 - Primer Hsf2 lacz 5' ATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTGG 3'

5- Amplifications:

wild-type allele: 90 bp
 mutant allele: 120 bp