

STRAIN: EM:01642 (Br2F) MIX A

PRIMER INT 10 F 5'-GGC/TGT/CTT/AGA/ACT/TAG/GCT/G -3'

PRIMER INT 10 REV 5'-CTC/CAC/ACA/TAC/ATC/ATG/TGT/C -3'

PRIMER INT 10 F 15pm / total volume 30ul Tm: 66°C

PRIMER INT 10 REV 15pm / total volume 30ul Tm: 64°C

PCR MIX

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER INT 10 F (0.5pm/ul)

PRIMER INT 10 REV (0.5pm/ul)

H2O

TAQ POLYMERASE (5U/ul) 0.3ul

DNA 2ul

TOTAL 30ul

PCR PROGRAM:

- 1) 95°C x 2'00''
- 2) 95°C x 0'30''
- 3) 62°C x 0'45''
- 4) 72°C x 1'00''
- 5) step 2 to step 5 x 50 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

MUTATION: 376 BP WILD TYPE: 298 BP

STRAIN: EM:01642 (Br2F) MIX B

PRIMER INT 11 F 5'-CTC/ATC/ATT/TGT/TGC/CTC/ACT/TC-3'

PRIMER INT 11 REV 5'-TGT/TGG/ATA/CAA/GGC/ATG/TAC/AC-3'

PRIMER INT 11 F 15pm / total volume 30ul Tm: 66°C

PRIMER INT 11 REV 15pm / total volume 30ul Tm: 66°C

PCR MIX

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER INT 11 F (0.5pm/ul)

PRIMER INT 11 REV (0.5pm/ul)

H2O

TAQ POLYMERASE (5U/ul) 0.3ul

DNA 2ul

TOTAL 30ul

PCR PROGRAM:

- 1) 95°C x 2'00''
- 2) 95°C x 0'45''
- 3) 64°C x 0'45''
- 4) 72°C x 1'30''
- 5) step 2 to step 5 x 50 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

MUTATION: 520 BP WILD TYPE: 450 BP