

PCR Dbx1 cre

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 Dbx1 a (200 ng/µl)
 0,30 µl primer Dbx1 b (200 ng/µl)
 0,20 µl primer Dbx1 cre a (200 ng/µl)
 0,20 µl primer Dbx1 cre b (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 19,05 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	
1 min	60°C	35 cycles
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer Dbx1 a 5' GAGGATGAGGAAATCACGGTG 3'
 - Primer Dbx1 b 5' GCAAGGAAATGTCTCTGGGAC 3'
 - Primer Dbx1 cre a 5' GTCCAATTTACTGACCGTACACC3'
 - Primer Dbx1 cre b 5' GTTATTCGGATCATCAGCTACACC3'

5- Amplifications:

wild-type allele: 200 bp
 mutant allele: 706 bp