

STRAIN: EM04003

PRIMER SEMA5B FOR 5'-CCT-GTT-GCC-TTG-TGG-GAA-GTA-AAC-3'

PRIMER SEMA5B REV 5'-GGA-GAA-ACC-TGA-TGG-ACA-CAC-AGA-3'

PRIMER FTR REV 5'-CCT TCC TCC TAC ATA GTT GGC AGT-3'

PRIMER SEMA5B FOR 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PRIMER SEMA5B REV 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PRIMER FTR REV 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PCR MIX

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER SEMA5B FOR (0.5pm/ul)

PRIMER SEMA5B REV (0.5pm/ul)

PRIMER FTR 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) 46°C x 0'30''
- 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: 204 BP

WILD TYPE: 170 BP

GEL 2.5%