

**STRAIN: EM04610**

**PRIMER clstn3 for**      **5'-ACT TGA TCA GTC CTC CTG CAT CAG-3'**  
**PRIMER clstn3 rev**      **5'-CTG AAG TTC AGG GTC AGC CTG TAA-3'**  
**PRIMER FTR REV**      **5'-CCT TCC TCC TAC ATA GTT GGC AGT-3'**

PRIMER clstn3 for      15pm / total volume 30ul      Tm: 72°C  
PRIMER clstn rev      15 pm / 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 HSF2BP FOR      (0.5pm/ul)  
PRIMER HSF2BP 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: 215 BP**      **WILD TYPE: 130 BP**