

STRAIN: EM09930 MIX A

PRIMER p1 5' AACCGAGCTGAAGCATTCTGCC 3'

PRIMER p4 5' CACGAGAAATGCGAAGGAACAAGC 3'

PRIMER p1 15pm / total volume 30ul Tm: 68°C

PRIMER p4 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PCR MIX

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER p1 (0.5pm/ul)

PRIMER p4 (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) 64°C x 0'30''
- 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: 842 bp

STRAIN: EM09930 MIX B

PRIMER p2 5' CCTTCAGCCTAAATACTGGGCAC 3'

PRIMER e4 5' TCATGGCGCTCCCCAGCATGTA 3'

PRIMER k4 5' GTGAGATGACAGGAGATCCTGCC 3'

PRIMER p2 15pm / total volume 30ul Tm: 70°C

PRIMER e4 15pm / total volume 30ul Tm: 70°C

PRIMER k4 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PCR MIX

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER p2 (0.5pm/ul)

PRIMER e4 (0.5pm/ul)

PRIMER k4 (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 0'30''
- 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: 680 bp

WILD TYPE: 450