

PCR lpr (Fas mutant)

(D'après Jian Ma, 1996, Journal of Immunology p 417-426)

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,25 µl dNTP (20 mM total)
 0,15 µl primer FAS1 (200 ng/µl)
 0,15 µl primer FAS2 (200 ng/µl)
 0,15 µl primer FAS3 (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 20,60 µl distilled water

2- PCR reaction :

24,0 µl mix
 1,0 µl DNA (200ng/µl)

3- PCR program :

5 min	94°C	
1 min	94°C	
1 min	55°C	35 cycles
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer FAS1 5' ACAGCATAGATTCCATTTGCTGCT 3'
 - Primer FAS2 5' TGAGTAATGGGCTCAGTGCAGCA 3'
 - Primer FAS3 5' CAAATTTTATTGTTGCGACACCA 3'

5- Amplifications:

wild-type allele (FAS1-FAS2) : 178 bp
 mutant allele (FAS1-FAS3) : 228 bp