

PCR LBP

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,50 µl dNTP (20 mM total)
 0,10 µl primer LBP1 (200 ng/µl)
 0,10 µl primer LBP2 (200 ng/µl)
 0,05 µl primer neoR1 (200 ng/µl)
 0,05 µl primer neoR2 (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 20,50 µl distilled water

2- PCR reaction :

24,0 µl mix
 1,0 µl DNA (200ng/µl)

3- PCR program :

5 min	94°C	35 cycles
1 min	94°C	
1 min	60°C	
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer LBP1	5' GCGGCCAAGGAGGGGCTGGTG 3'
- Primer LBP2	5' CCAGTCACCTATGAAACTCG 3'
- Primer neoR 1	5' TCGCCGCCAAGCTCTTCAGC 3'
- Primer neoR 2	5' GTCAAGACCGACCTGTCCGG 3'

5- Amplifications:

wild type allele: 125 bp
 mutant allele: 560 bp