

PCR TNF (MARINO)

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,50 µl dNTP (20 mM total)
 0,20 µl primer Exon4 (200 ng/µl)
 0,15 µl primer Neo428 (200 ng/µl)
 0,20 µl primer Exon2 (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 20,25 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	60°C	35 cycles
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer Exon4 5' AGATAGCAAATCGGCTGACGG 3'
 - Primer neo428 5' CCTTCTATCGCCTTCTTGACG 3'
 - Primer Exon2 5' ATCAGTTCTATGGCCCAGACC 3'

5- Amplifications:

wild type allele: 750 bp
 mutant allele: 1200 bp