

PCR P2Y1

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,50 µl dNTP (20 mM total)
 0,15 µl primer P2Y1F(200 ng/µl)
 0,30 µl primer P2Y1R (200 ng/µl)
 0,15 µl primer Neo 18,5 (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 20,20 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	35 cycles
1 min	57°C	
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer P2Y1 F	5' ACAGTACTGTCGCCTCAACT 3'
- Primer P2Y1 R	5' CCGAAGATCCAGTCAGTCTT 3'
- Primer neo 18,5	5' TCCTCGTGCTTTACGGTATC 3'

5- Amplifications:

wild-type allele:	290 bp
mutant allele:	900 bp