

**STRAIN: EM00323 (CX30 –LacZ-) KO)**

**PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) 5'-GGT/ACC/TTC/TAC/TAA/TTA/GCT/TGG -3'**

**PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) 5'-AGG/TGG/TAC/CCA/TTG/TAG/AGG/AAG -3'**

**PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) 5'-AGC/GAG/TAA/CAA/CCC/GTC/GGA/TTC -3'**

PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) 15pm / total volume 30ul Tm: 68°C

PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) 3pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) 15pm / total volume 30ul Tm: 74°C

**PCR MIX**

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) (0.5pm/ul)

PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) (0.1pm/ul)

PRIMER CX 30 KO LACZ(e Neo) (0.5pm/ul)

H2O

TAQ POLYMERASE (5U/ul) 0.16ul

DNA 1ul

**TOTAL** 30ul

**PCR PROGRAM:**

- 1) 95°C x 2'00''
- 2) 95°C x 0'30''
- 3) 60°C x 0'30''
- 4) 72°C x 1'30''
- 5) step 2 to step 5 x 40 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

**MUTATION: 460 BP WILD TYPE: 544 BP**

