

STRAIN: EM00410(RCM2)

PRIMER KIMCRE1: 5'-CGA-TGC-AAC-GAG-TGA-TGA-GGT-TC -3'

PRIMER KIMCRE2: 5'-GCA-CGT-TCA-CCG-GCA-TCA-AC -3'

PRIMER KCRE1 15pm / total volume 30ul Tm: 70°C

PRIMER KCRE2 15pm / total volume 30ul Tm: 64°C

PCR MIX

DNTPS (2Mm)	3ul
PCR BUFFER 10x	3ul
PRIMER KCRE1 (0.5pm/ul)	
PRIMER KCRE2 (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) 62°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: 300 BP