

PCR KitW lac Z

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,25 µl dNTP (20 mM total)
 0,20 µl primer kit for (200 ng/µl)
 0,20 µl primer kit rev (200 ng/µl)
 0,20 µl primer kit lacz1 (200 ng/µl)
 0,20 µl primer kit lacz2 (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 19,25 µl distilled water

2- PCR reaction :

23,0 µl mix
 2,0 µl DNA (200ng/µl)

3- PCR program :

5 min	94°C	
1 min	94°C	
1 min	55 °C	35 cycles
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer kit for 5' GGATCAGCTTATTGCAGCCCGA 3'
 - Primer kit rev 5' CATGGGAAAAGCCAACAGCT 3'
 - Primer kit lacz1 5' GCATCGAGCTGGGTAATAAGCG 3'
 - Primer kit lacz2 5' GACACCAGACCAACTGGTAATGGTAGCG 3'

5- Amplification:

wild-type allele : 400 bp
 mutant allele: 800 bp