

PCR SEMA3E

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 SEMA3E 1 (200 ng/µl)
 0,20 µl primer SEMA3E 2 (200 ng/µl)
 0,20 µl primer SEMA3E 4 (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 19,45 µl distilled water

2- PCR reaction :

23,0 µl mix
 2,0 µl DNA (200ng/µl)

3- PCR program :

5 min	94°C	
30 sec	94°C	
30 sec	58 °C	35 cycles
1 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer SEMA3E 1 5' GACAGAAAGGCTTAGCGGATC 3'
 - Primer SEMA3E 2 5' GGTTCGCCGAGTGACCTG 3'
 - Primer SEMA3E 4 5' CTTGCTCACCATGGTGCGTG 3'

5- Amplification:

wild-type allele : 250 bp
 KO allele : 200 bp