

STRAIN: EM01392 (NOD-B6-Idd5-R39)

PRIMER 1: D1MIT480 5'- TCA/TTG/TGC/CCT/AAA/ACT/TGG-3'

PRIMER 2: D1MIT480 5'- GAG/ATG/AAG/CAT/TCT/CAA/TTA/TGC-3'

PRIMER 1: D1MIT480 15pm / total volume 30ul Tm: 60°C

PRIMER 2: D1MIT480 15pm / total volume 30ul Tm: 66°C

PCR MIX

DNTPS (2mM)	3ul
PCR BUFFER 10x	3ul
PRIMER 1: D1MIT480 (0.5pm/ul)	
PRIMER 2: D1MIT480 (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) 58°C x 0'30''
- 4) 72°C x 1'30''
- 5) step 2 to step 5 x 45 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

MUTATION(B6): 170 bp

WT(NOD_CBA): 150 bp