

PCR AMPK alpha1

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,25 µl dNTP (20 mM total)
 0,15 µl primer IRES Fa2 (200 ng/µl)
 0,15 µl primer 3.0 Ra1 (200 ng/µl)
 0,15 µl primer alpha WT F (200 ng/µl)
 0,15 µl primer alpha WT R (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	35 cycles
30 sec	94°C	
30 sec	60 °C	
1 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer IRES Fa2	5' GGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGC3'
- Primer 3.0 Ra1	5' CCTTCCTGAAATGACTTCTGGTGC3'
- Primer alpha WT F	5' AGCCGACTTTGGTAAGGATG3'
- Primer alpha WT R	5' CCCACTTTCCATTTTCTCCA3'

5- Amplification:

wild-type allele : 450 bp
 KO allele : 350 bp