

**STRAIN: EM:01792 (RhotTA-L5)**

**PRIMER tTAf 5'-ATG/AGG/TCG/GAA/TCG/AAG/G -3'**

**PRIMER tTAr 5'-GGC/ATA/CTA/TCA/GTA/GTA/GG -3'**

PRIMER tTAf 15pm / total volume 30ul Tm: 58°C

PRIMER tTAr 15pm / total volume 30ul Tm: 58°C

**PCR MIX**

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER tTAf (0.5pm/ul)

PRIMER tTAr (0.5pm/ul)

H2O

TAQ POLYMERASE (5U/ul) 0.3ul

DNA 1ul

**TOTAL 30ul**

**PCR PROGRAM:**

- 1) 95°C x 2'00''
- 2) 95°C x 0'30''
- 3) 56°C x 0'30''
- 4) 72°C x 1'30''
- 5) step 2 to step 5 x 50 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

**MUTATION: 500 BP**