

PCR vezatin

1- PCR mix

2,50 µl 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,25 µl dNTP (20 mM total)
 0,60 µl primer veza1 (200 ng/µl)
 0,30 µl primer veza neo (200 ng/µl)
 0,30 µl primer veza2 (200 ng/µl)
 0,20 µl Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/µl)
 18,85 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	35 cycles
1 min	60°C	
2 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer veza1	5' GCTAGGTGCTTAAAGCTATCCCACAACTCC 3'
- Primer veza neo	5' AAGTGCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGC 3'
- Primer veza2	5' GAACCAGGCCAGTGGTCAGTAAGTCTCAAC 3'

5- Amplifications:

wild-type allele:	1108 bp
KO allele:	404 bp
floxed allele:	1063 bp