

**STRAIN: EM01825 (Vps54-beta-Geo)**

**PRIMER 1 5'-TCCTTAGAGAGTGATCGTGAGAA -3'**

**PRIMER 2 5'-CTCCCAGTAGAGCCAACAAG -3'**

**PRIMER 3 5'-GCCTGCTCAAACCTGAACC -3'**

PRIMER 1 15pm / total volume 30ul Tm: 66°C

PRIMER 2 15pm / total volume 30ul Tm: 62°C

PRIMER 3 15pm / total volume 30ul Tm: 60°C

**PCR MIX**

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER 1 (0.5pm/ul)

PRIMER 2 (0.5pm/ul)

PRIMER 3 (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: 324 BP**

**WILD TYPE: 413 BP**