

STRAIN: EM04410 (MIX A)

PRIMER PARVB FOR **5'-TCC-TAG-CTG-ATC-TGA-CTC-TTC-CTC-3'**
PRIMER FRT3 REV **5'-CTT-CGG-AAT-AGG-AAC-TTC-GGT-TCC-3'**

PRIMER PARVB FOR 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C
PRIMER FRT3 REV 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PCR MIX

DNTPS (2mM)	3ul
PCR BUFFER 10x	3ul
PRIMER PARVB FOR	(0.5pm/ul)
PRIMER FRT3 REV	(0.5pm/ul)
H2O	
TAQ POLYMERASE (5U/ul)	0.3ul
DNA	2ul
TOTAL	30ul

PCR PROGRAM:

- 1) 95°C x 2'00''
- 2) 95°C x 0'30''
- 3) 46°C x 0'30''
- 4) 72°C x 1'00''
- 5) step 2 to step 5 x 50 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

MUTATION: 230 BP

STRAIN: EM04410 (MIX B)

PRIMER SF3A1 FOR **5'-GAA-CTC-AGA-GTG-TCC-ATC-ATG-TC-3'**

PRIMER SF3A1 REV **5'-TAA-TGT-CTT-GCC-CAA-GTA-CTG-CC-3'**

PRIMER SF3A1 FOR 15pm / total volume 30ul Tm: 68°C

PRIMER SF3A1 REV 15pm / total volume 30ul Tm: 68°C

PCR MIX

DNTPS (2mM)	3ul
PCR BUFFER 10x	3ul
PRIMER SF3A1 FOR	(0.5pm/ul)
PRIMER SF3A1 REV	(0.5pm/ul)
H2O	
TAQ POLYMERASE (5U/ul)	0.3ul
DNA	2ul
TOTAL	30ul

PCR PROGRAM:

- 1) 95°C x 2'00''
- 2) 95°C x 0'30''
- 3) 46°C x 0'30''
- 4) 72°C x 1'00''
- 5) step 2 to step 5 x 50 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

WT: 170 BP