

STRAIN: EM04517 A (MUT)

PRIMER MLH1 FOR **5'-GAA-AGC-TTC-GTC-CAT-GGT-TGG-TTG-3'**

PRIMER FRT 24 REV **5'-CCT TCC TCC TAC ATA GTT GGC AGT-3'**

PRIMER MLH1 FOR 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PRIMER FRT 24 REV 15 pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PCR MIX

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER MLH1 FOR (0.5pm/ul)

PRIMER FRT 24 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: 215 BP

STRAIN: EM04517 B (WT)

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: 72°C

PRIMER SF3A1 REV 15 pm / total volume 30ul Tm: 72°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