

STRAIN: EM04732

PRIMER LOXP FOR 5'-TTA-TGG-TCT-GAG-CTC-GCC-ATC-AGT-3'

PRIMER col4a5 rev 5'-AAT CAT ACT GCA AGG CTG CTT GGC-3'

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

PRIMER col4a5 rev 15 pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PCR MIX

DNTPS (2mM)	3ul
PCR BUFFER 10x	3ul
PRIMER LOXP FOR	(0.5pm/ul)
PRIMER col4a5 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: 190 BP

WILD TYPE: 124 BP