

STRAIN: EM04961 (Tac Atg3 tm1a)

PRIMER lox-p For **5'-TTA TGG TCT GAG CTC GCC ATC AGT-3'**

PRIMER Atg3 Rev **5'-GCG GGA CAT TCA CCT GTG ATG TTA-3'**

PRIMER lox-p For 15pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PRIMER Atg3 Rev 15 pm / total volume 30ul Tm: 72°C

PCR MIX

DNTPS (2mM) 3ul

PCR BUFFER 10x 3ul

PRIMER lox-p For (0.5pm/ul)

PRIMER Atg3 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 1'30''
- 5) step 2 to step 5 x 50 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

MUTATION: 200 bp