

STRAIN: EM05264 (Tac Hsph1 tm1a)

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

PRIMER hsph1 Rev 5'-GCT ATC AGC TTT CCC AGT CTA-3'

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

PRIMER hsph1 Rev 15 pm / total volume 30ul Tm: 62°C

PCR MIX

DNTPS (2mM)	3ul
PCR BUFFER 10x	3ul
PRIMER lox-p For	(0.5pm/ul)
PRIMER hsph1 Rev	(0.5pm/ul)
H2O	
TAQ POLYMERASE (5U/ul)	0.25ul
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 45 repeats
- 6) 72°C x 10'00''
- 7) 4°C forever
- 8) End

MUTATION: 146 bp