

**STRAIN: EM10409      MIX A**

**PRIMER** Avil-iDTR Rv mt      **5'** CATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCA **3'**

**PRIMER** Avil-iDTR Fw mt      **5'** CTGCCACCCAGGTTACCATGGAGAGAGG **3'**

**PRIMER** Avil-iDTR Rv mt      15pm / total volume 30ul      Tm: 78°C

**PRIMER** Avil-iDTR Fw mt      15pm / total volume 30ul      Tm: 90°C

**PCR MIX**

DNTPS (2mM)      3ul

PCR BUFFER 10x      3ul

**PRIMER** Avil-iDTR Rv mt      (0.5pm/ul)

**PRIMER** Avil-iDTR Fw mt      (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) 60°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:** 287 bp

**STRAIN: EM10409      MIX B**

**PRIMER** Avil-iDTR Fw Wt      **5'** AGGAGCGAGGGCTCAGTTGGGCTGT **3'**

**PRIMER** Avil-iDTR Rv Wt      **5'** ACACCAGGTTAGCCTTTAAGCCTGC **3'**

**PRIMER** Avil-iDTR Fw Wt      15pm / total volume 30ul      Tm: 82°C

**PRIMER** Avil-iDTR Rv Wt      15pm / total volume 30ul      Tm: 76°C

**PCR MIX**

DNTPS (2mM)      3ul

PCR BUFFER 10x      3ul

**PRIMER** Avil-iDTR Fw Wt      (0.5pm/ul)

**PRIMER** Avil-iDTR Rv Wt      (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) 60°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

**WILD TYPE:** 313 bp