

# GENOTYPAGE KO-miR-379/miR-410

-DIGESTION O/N dans tampon protéinase K (10 mg/ml) à 55°C (bain-marie ou four)

-PURIFICATION ADN (Kit Promega Wizard Purification System #A2361)

élution dans 250 µl H<sub>2</sub>O

-AMPLIFICATION par PCR

Allèle WT couple 2190/2799 (couple A à 25µM) bande à 288 pb

Allèle KO couple 2190/2195 (couple H à 25µM) bande à 426 pb

Mix PCR:

ADN	1.5 µl
Go taq buffer 5X	4 µl (1X)
dNTPs 2.5 mM	0.5 µl (0.0625mM)
Primer A (25 µM)	0.5 µl (0.625µM)
Primer H (25 µM)	0.5 µl (0.625µM)
Go taq	0.15 µl
H <sub>2</sub> O	12.85 µl
Vol tot	20 µl

Conditions pcr:

<u>Temp</u>	<u>Times</u>	<u>Nb Cycles</u>
94°C	3 min	1
94°C	1 min	
62°C	1 min	2
72°C	1 min	
94°C	30 s	
62°C	30 s	30
72°C	30 s	
72 °C	3 min	
4°C	-----	

**2190** GCCATTAGATCATGGTCTCTATCGGG

**2195** GTCTTCTGAAATAAGGCATGGGTGTAGC

**2799** GATTCCCCTGAGATGCATTCAACAC