PCR protocol

Sheet ID PS_00935
Release date : 10.31.2018
Print date : 10/31/2018

RBRC 01747 **Strain name** A-17<SM>

Primer	primer_name	primer_seq	length		Reference
1	D17Mit28-1	ACTCAGGACTCAGAATGAAGATCC	24		Depositor's primer
2	D17Mit28-2	ATTCCTAGATGAAAAGTCTGTGGC	24		Depositor's primer
3	D17Mit92-1	CAGGGTCTCAGATTTGATTGC	21		Depositor's primer
4	D17Mit92-2	TCCTCCACTGAAACACCCTC	20		Depositor's primer
5	D17Mit123-1	CACAAGGAGGGAGCCTGTAG	20		Depositor's primer
6	D17Mit123-2	CACCGTAAGAGTCTAATAATAAGGGG	26		Depositor's primer

Reaction Components

Enzyme QIAGEN Multiplex PCR Kit (Cat. No. 206143)

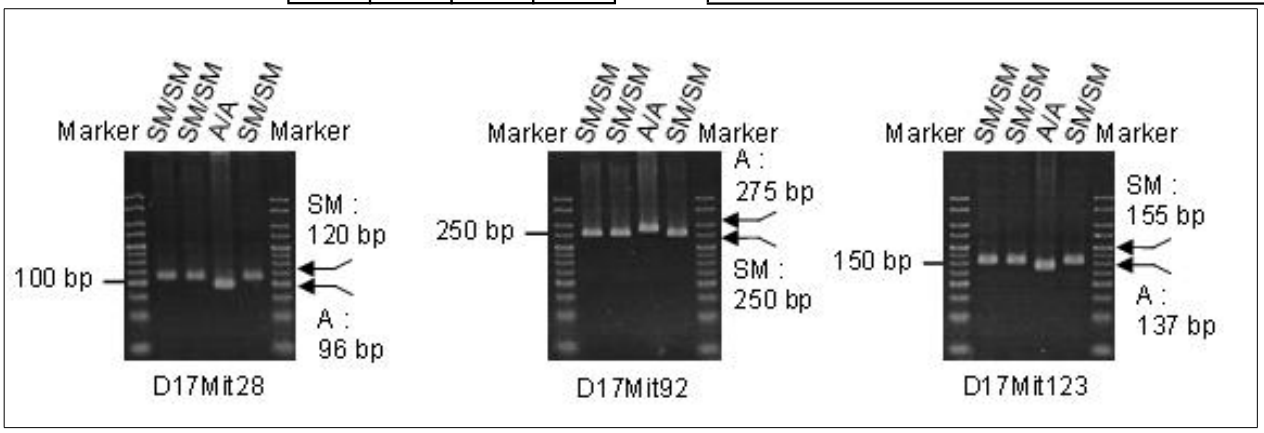
Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4	
H2O		2.0	2.0	2.0		(μL)
Master Mix	2 X	5.0	5.0	5.0		
primer 1	10 pmol/μl	1.0	0	0		
primer 2	10 pmol/μl	1.0	0	0		
primer 3	10 pmol/μl	0	1.0	0		
primer 4	10 pmol/μl	0	1.0	0		
primer 5	10 pmol/μl	0	0	1.0		
primer 6	10 pmol/μl	0	0	1.0		
DNA		1.0	1.0	1.0		
	total	10	10	10		

Reaction Conditions

step	temp (℃)	time (sec)	note
1	95	900	
2	94	30	*
3	60	90	*
4	72	60	* *Repeat for 30 cycles
5	60	1800	

Marker 25 bp DNA ladder (Invitrogen, Cat. 10597-011)

Gel 4% Nusieve in 0.5 X TBE (100 V, 60 min)



primer_set		product_size	product (allele type)
primer 1	primer 2	120 bp	SM
primer 1	primer 2	96 bp	A
primer 3	primer 4	250 bp	SM
primer 3	primer 4	275 bp	A
primer 5	primer 6	155 bp	SM
primer 5	primer 6	137 bp	A

Comment Separated PCR