PCR protocol

Sheet ID PS_01074
Release date : 5/6/2022
Print date : 5/6/2022

RBRC 02091 **Strain name** STOCK Pcdha<tm5.1Tyag> Olfr151<tm25Mom>/TyagRbrc

Primer	primer_name	primer_seq	length		Reference
1	A114A	ATGGAGAGCAATGATTCCTG	20		Depositor's primer
2	1121B	GCAGCTGTGGGCTTGTTCTATGGATCC	27		Depositor's primer
3	797	TGGAGCCCGTCAGTATCGGC	20		Depositor's primer
4	Primer B	GCCCTGCAAATATCATCAAG	20		Depositor's primer
5	NA-F	GGTGAGTTGCCAGACAAATTC	21		Depositor's primer

Reaction Components

Enzyme Roche Taq (Cat. No. BM1418432)

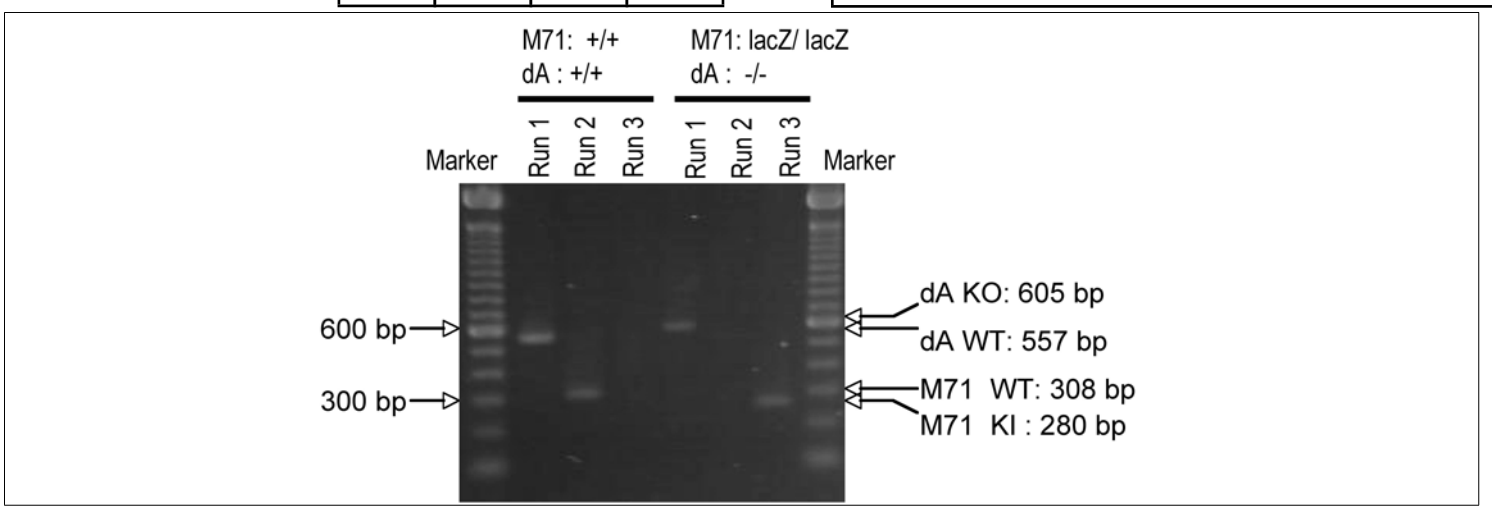
Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4	
H2O		17.3	17.3	17.3		(μL)
PCR buffer	10 X	2.5	2.5	2.5		
dNTP	2.5 mM	2.0	2.0	2.0		
primer 1	10 pmol/μl	0	1.0	1.0		
primer 2	10 pmol/μl	0	1.0	0		
primer 3	10 pmol/μl	0	0	1.0		
primer 4	10 pmol/μl	1.0	0	0		
primer 5	10 pmol/μl	1.0	0	0		
DNA		1.0	1.0	1.0		
Taq		0.2	0.2	0.2		
	total	25	25	25		

Reaction Conditions

step	temp (℃)	time (sec)	note
1	94	180	
2	94	30	*
3	55	30	*
4	72	60	* *Repeat for 35 cycles
5	72	300	

Marker 100 bp ladder (Invitrogen, Cat. 15628-050)

Gel 2% agarose in 1 X TAE (100 V, 35 min)



primer_set		product_size	product (allele type)	
primer 4	primer 5	557 bp	WT (dA)	
primer 4	primer 5	605 bp	KO (dA)	
primer 1	primer 2	308 bp	WT (M71)	
primer 1	primer 3	280 bp	KI (M71)	

Comment Separated PCR