

RBRC 02725

Strain name B6.Cg-Gpr89<tm1>

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	SF1	GCGCACACACACATATATTAAGACA	25	Depositor's primer
2	FRT-R1	AGTTCTTGGAGCCTATGCTGAATAC	25	Depositor's primer
3	mGPR-lox-R	ACAATAACAGAGTTGACCAGCATTC	25	Depositor's primer

Reaction Components

Enzyme TOYOBO KOD FX (Code.No : KFX-101)

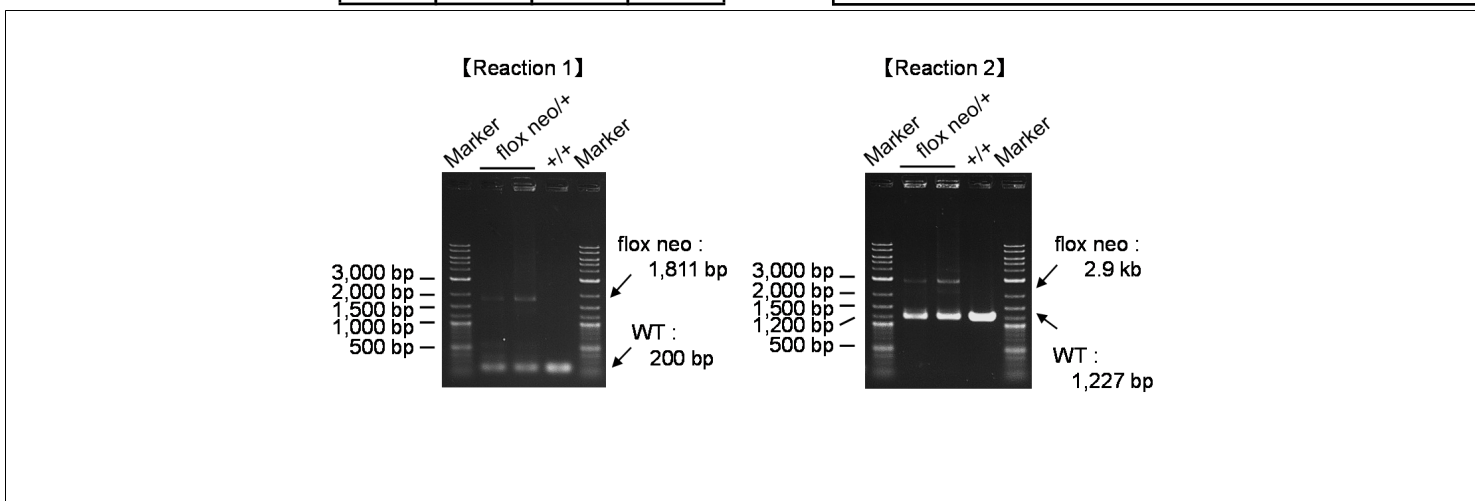
Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		2.6	2.6		
PCR buffer	2 X	10.0	10.0		
dNTP	2.0 mM	4.0	4.0		
primer 1	10 pmol/ μ l	1.0	1.0		
primer 2	10 pmol/ μ l	1.0	0		
primer 3	10 pmol/ μ l	0	1.0		
DNA		1.0	1.0		
Taq	1 U/ μ l	0.4	0.4		
total		20	20		

Reaction Conditions

step	temp (°C)	time (sec)	note
1	94	120	
2	98	10*	
3	68	180*	*Repeat for 30 cycles

Marker 2-Log DNA Ladder (NEB, Cat. N3200)

Gel 1% agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min)



primer_set	product_size	product (allele type)	
primer 1 & primer 2	200 bp	WT	primer 1 & primer 2 : WT 200 bp primer 1 & primer 3 : WT 1227 bp primer 1 & primer 2 : flox neo 1811 bp primer 1 & primer 2 : flox delta neo 347 bp primer 1 & primer 3 : flox delta neo 1.2 kb primer 1 & primer 3 : null 276 bp
primer 1 & primer 3	1227 bp	WT	
primer 1 & primer 2	1811 bp	flox neo	
primer 1 & primer 3	2.9 kb	flox neo	

Comment [Standard PCR](#)

Novagen KOD Xtreme™ Hot Start DNA Polymerase can be purchased from EMD.