

PCR protocol

RBRC 02762

Strain name B6.B6CB-Psme1/Psme2<tm1 Smta>

Primer	primer_name	primer_seq	length	
1	PA28a S	CAGAGTTCACCTGTCTGTACCTCT	25	Depositor's primer
2	PA28a AS	GCCTCTGGCCTTGAAAATCGCT	22	Depositor's primer
3	PA28a-del AS	CCTGATGAGTTAGGTCTTACCTTGCTAC	28	Depositor's primer
4	PA28b R	GAGATAAAGCTCGGTGCTCCTGG	23	RIKEN BRC
5	PA28b F	GTGAACTGGTGGGTTACTCAGAGC	24	RIKEN BRC
6	NeoS	TGCATACGCTTGATCCGGCTAC	22	Depositor's primer

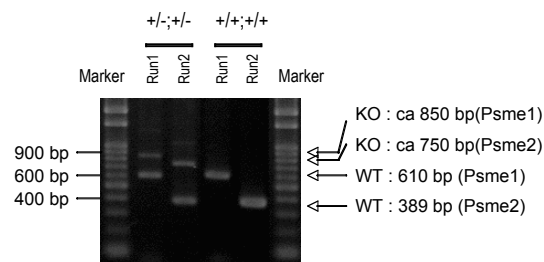
Reaction Components

Enzyme	TaKaRa Ex Taq (Cat. No. RR001A)
--------	---------------------------------

Reaction Conditions

	Conc	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4
H2O		12.3	12.3		
PCR buffer	10 X	2.0	2.0		
dNTP	2.5 mM	1.6	1.6		
primer 1	10 pmol/ μ l	1.0	0		
primer 2	10 pmol/ μ l	1.0	0		
primer 3	10 pmol/ μ l	1.0	0		
primer 4	10 pmol/ μ l	0	1.0		
primer 5	10 pmol/ μ l	0	1.0		
primer 6	10 pmol/ μ l	0	1.0		
DNA		1.0	1.0		
Taq		0.1	0.1		
total		20	20		

step	temp (°C)	time (sec)	note
1	94	180	
2	94	30*	
3	63	30*	
4	72	60*	*Repeat for 30 cycles
5	72	300	



Marker

Gene Ladder 100 (Wako, Cat. 316-06951)

Gel

2% agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min)

PCR products

primer_set	product_size	product
primer 1 primer 3	610 bp	WT (Psme1)
primer 1 primer 2	ca 850 bp	KO (Psme1)
primer 4 primer 5	389 bp	WT (Psme2)
primer 4 primer 6	ca 750 bp	KO (Psme2)

Comment