

RBRC 05847

Strain name B6.Cg-Ednrb<tm1Ywa> Tg(DBH-Ednrb)Ywa Tg(Dct-lacZ)A12Jkn

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	KH38	ATCTGCATACCGCTCTTCTTCCTGAGCATTTC	32	Cell, 79, 1267-1276 (1994).
2	intron 2	TAAACCAGTGGTCTTCAACCTTCC	24	Depositor's primer
3	5' neo	TCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTG	24	Cell, 79, 1267-1276 (1994).
4	hDBH	GAAGGGACAGCATCCGCCTGTC	22	RIKEN BRC
5	DbH-EdnrbTg Rev	TACCCGCGCCTTAACAGTAA	20	Depositor's primer
6	LFp	CAGGACACGGCTTGTCATCATGGTGT	26	Depositor's primer
7	DRp	CATTCATCGTCTCTCAGGAATTCA	24	Depositor's primer
8	LRp	CCACACAGACACCTACCACATGCGT	25	Depositor's primer

Reaction Components

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

Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		1.1	1.8		
PCR buffer	2 X	10.0	10.0		
dNTP	2.0 mM	4.0	4.0		
primer 1	10 pmol/μl	1.0	0		
primer 2	10 pmol/μl	1.0	0		
primer 3	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 4	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 5	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 6	10 pmol/μl	0	1.0		
primer 7	10 pmol/μl	0	1.0		
primer 8	10 pmol/μl	0	1.0		
DNA		1.0	1.0		
Taq	1 U/μl	0.4	0.2		
total		20	20		

Reaction Conditions

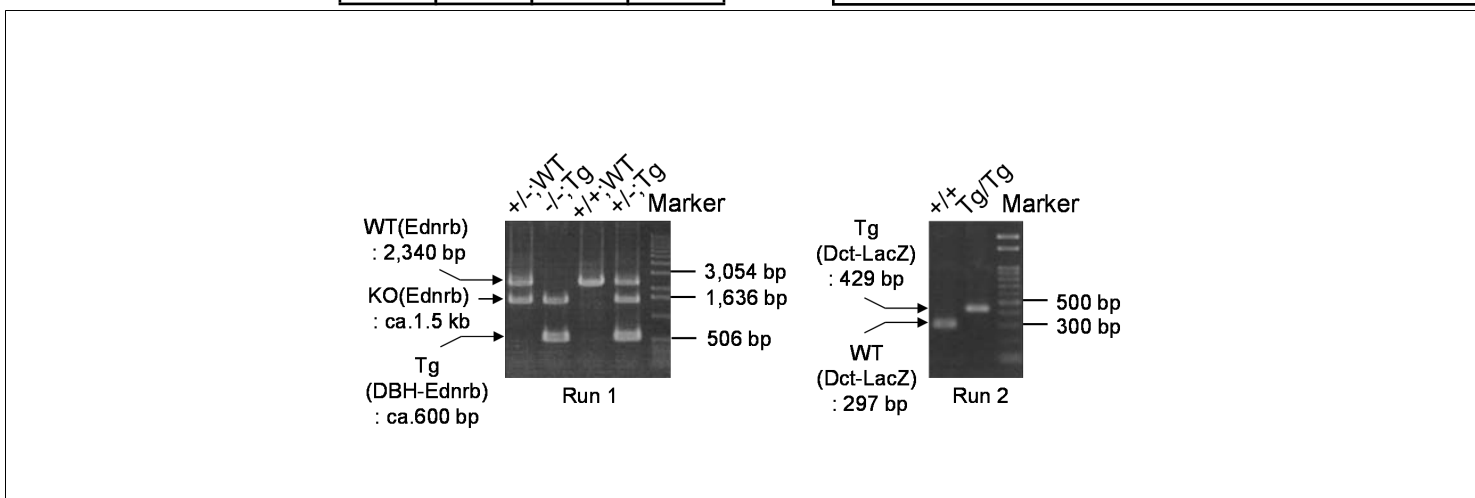
step	temp (°C)	time (sec)	note
1	94	120	
2	98	10*	
3	60	30*	
4	68	240*	*Repeat for 30 cycles

Marker

marker Run1:1 kb DNA ladder (Invitrogen, Cat. 15615-024),marker Run2:Gene Ladder 100 (Wako, Cat. 316-06951)

Gel

Run1:1 % agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min),Run2:2 % agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min)



primer_set	product_size	product (allele type)
primer 1	primer 2	2,340 bp WT(Ednrb)
primer 1	primer 3	ca 1.5 kb KO(Ednrb)
primer 4	primer 5	ca 600 bp Tg(DBH-Ednrb)
primer 6	primer 7	429 bp Tg(Dct-lacZ)
primer 6	primer 8	297 bp WT

Comment [Standard PCR](#)

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

RBRC 05847

Strain name B6.Cg-Ednrb<tm1Ywa> Tg(DBH-Ednrb)Ywa Tg(Dct-lacZ)A12Jkn

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	KH38	ATCTGCATACCGCTCTTCTTCCTGAGCATTTC	32	Cell, 79, 1267-1276 (1994).
2	intron 2	TAAACCAGTGGTCTTCAACCTTCC	24	Depositor's primer
3	5' neo	TCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTG	24	Cell, 79, 1267-1276 (1994).
4	hDBH	GAAGGGACAGCATCCGCCTGTC	22	RIKEN BRC
5	DbH-EdnrbTg Rev	TACCCGCGCCTTAACAGTAA	20	Depositor's primer
6	LFp	CAGGACACGGCTTGTCATCATGGTGT	26	Depositor's primer
7	DRp	CATTCATCGTCTCTCAGGAATTCA	24	Depositor's primer
8	LRp	CCACACAGACACCTACCACATGCGT	25	Depositor's primer

Reaction Components

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

Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		2.3	1.8		
PCR buffer	2 X	10.0	10.0		
dNTP	2.0 mM	4.0	4.0		
primer 1	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 2	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 3	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 4	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 5	10 pmol/μl	0.5	0		
primer 6	10 pmol/μl	0	1.0		
primer 7	10 pmol/μl	0	1.0		
primer 8	10 pmol/μl	0	1.0		
DNA		1.0	1.0		
Taq	1 U/μl	0.2	0.2		
total		20	20		

Reaction Conditions

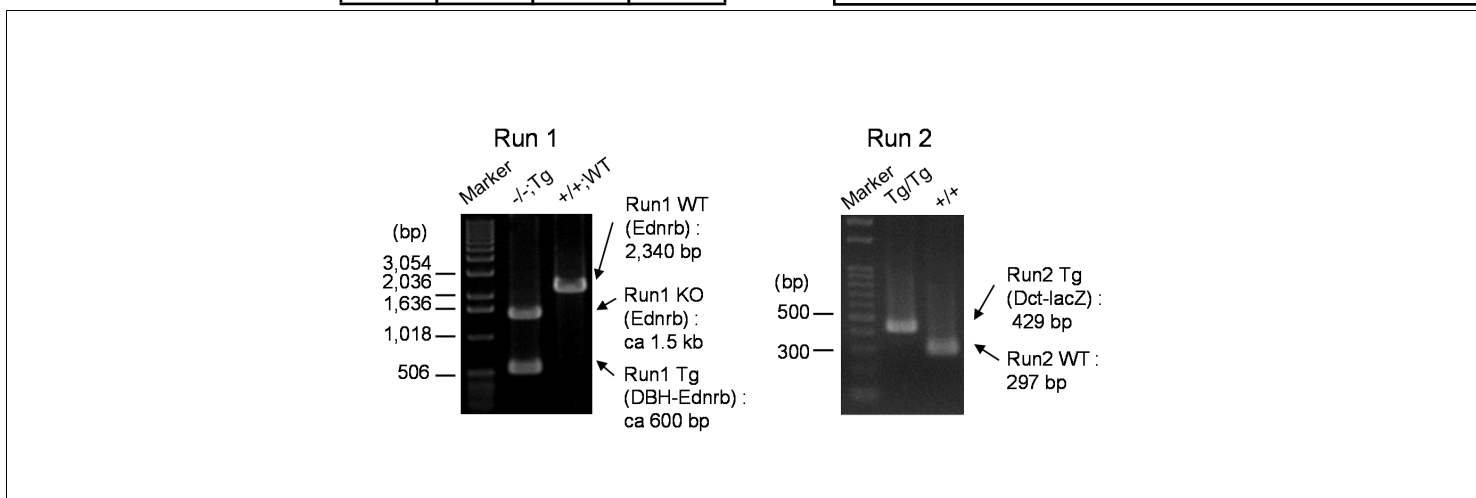
step	temp (°C)	time (sec)	note
1	94	120	
2	98	10*	
3	60	30*	
4	68	180*	*Repeat for 30 cycles

Marker

marker Run1:1 kb DNA ladder (Invitrogen, Cat. 15615-024),marker Run2:Gene Ladder 100 (Wako, Cat. 316-06951)

Gel

Run1:1 % agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min),Run2:2 % agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min)



primer_set	product_size	product (allele type)
primer 1	primer 2	2,340 bp WT(Ednrb)
primer 1	primer 3	ca 1.5 kb KO(Ednrb)
primer 4	primer 5	ca 600 bp Tg(DBH-Ednrb)
primer 6	primer 7	429 bp Tg(Dct-lacZ)
primer 6	primer 8	297 bp WT

Comment [Standard PCR](#)

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

RBRC 05847

Strain name B6.Cg-Ednrb<tm1Ywa> Tg(DBH-Ednrb)Ywa Tg(Dct-lacZ)A12Jkn

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	EdnrbKO For	AGAGGCTATTCGGCTATGACTG	22	Depositor's primer
2	EdnrbKO Rev	CCTGATCGACAAGACCGGCTTC	23	Depositor's primer
3	hDBH	GAAGGGACAGCATCCGCCTGTC	22	RIKEN BRC
4	DbH-EdnrbTg Rev	TACCCGCGCCTTAACAGTAA	20	Depositor's primer
5	oIMR0015	CAAATGTTGCTTGTCTGGTG	20	JAX Genotyping Protocol
6	oIMR0016	GTCAGTCGAGTGCACAGTTT	20	JAX Genotyping Protocol
7	LFp	CAGGACACGGCTTGTTCATCATGGTGT	26	Depositor's primer
8	DRp	CATTCATCGTCTCTCAGGAATTCA	24	Depositor's primer
9	LRp	CCACACAGACACCTACCACATGCGT	25	Depositor's primer

Reaction Components

Enzyme TaKaRa Ex Taq (Cat. No. RR001A)

Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		11.3	11.3	12.3	
PCR buffer	10 X	2.0	2.0	2.0	
dNTP	2.5 mM	1.6	1.6	1.6	
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	1.0	1.0	0	
primer 6	10 pmol/μl	1.0	1.0	0	
primer 7	10 pmol/μl	0	0	1.0	
primer 8	10 pmol/μl	0	0	1.0	
primer 9	10 pmol/μl	0	0	1.0	
DNA		1.0	1.0	1.0	
Taq	5 U/μl	0.1	0.1	0.1	
total		20	20	20	

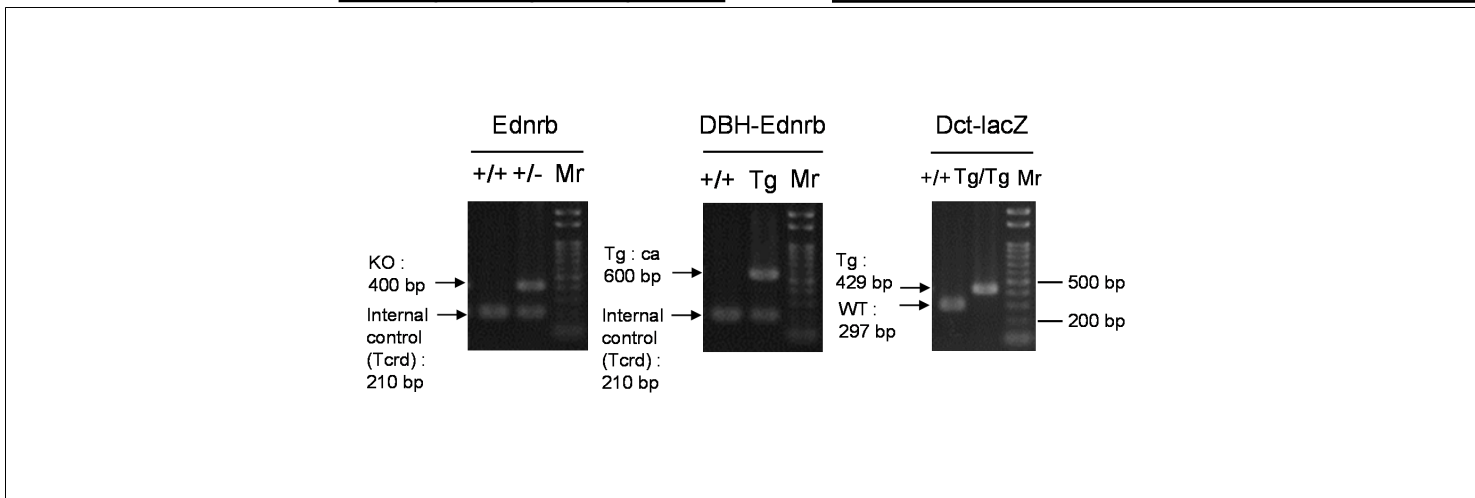
(μL)

Reaction Conditions

step	temp (°C)	time (sec)	note
1	94	180	
2	94	30*	
3	60	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)



primer_set	product_size	product (allele type)
primer 1	primer 2	400 bp
primer 3	primer 4	ca 600 bp
primer 5	primer 6	210 bp
primer 7	primer 8	429 bp
primer 7	primer 9	297 bp
		KO
		Tg(DBH-Ednrb)
		Internal control (Tcrd)
		Tg(Dct-lacZ)
		WT

Comment