

RBRC 05927

Strain name B6.Cg-Map3k5<tm1Hijo> Map3k15<tm1Hijo>

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	502S	GCCGTGCTGGACCGTTTTTAC	21	Depositor's primer
2	GENO2	GTGAGGCGTGATGTAAATAGGAAGC	25	Depositor's primer
3	Neo	GCAATCCATCTTGTTCAATGGCC	23	Int. Immunol., 14, 637-645 (2002).
4	mA3WT-f5	ATCGAGCTGAGCCCTGCAATCCTCGCCT	28	Depositor's primer
5	mA3WT-asl2	GGGGGCAGCCTGCCCTGGGGC	21	Depositor's primer
6	Neo30	TTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGA	30	Depositor's primer

### Reaction Components

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

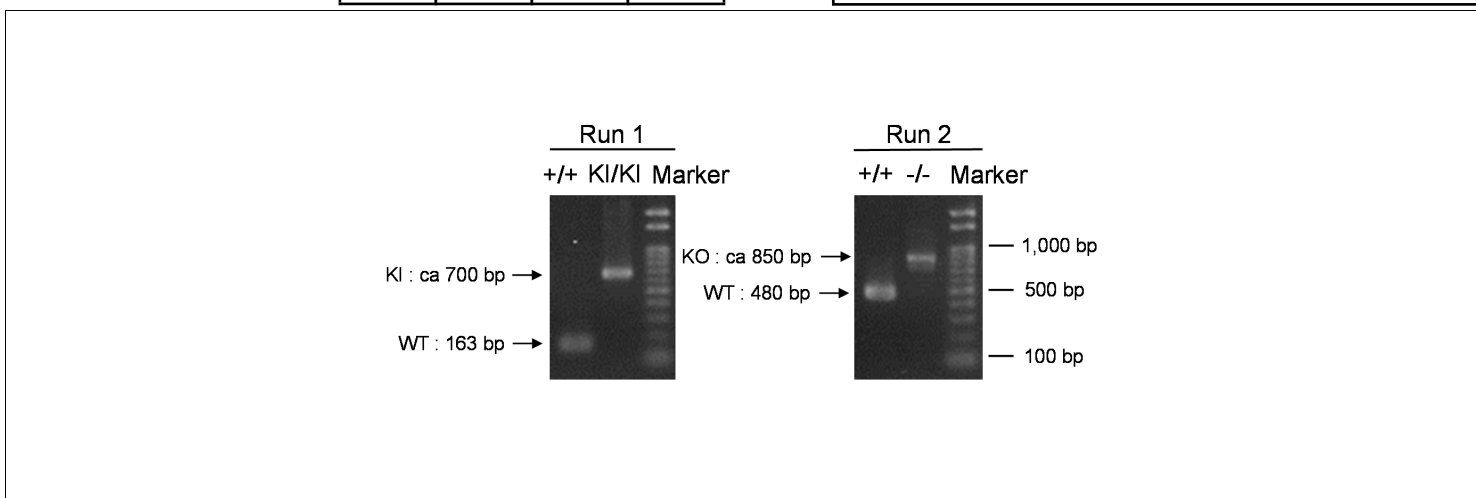
### Reaction Conditions

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

Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		1.8	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	1.0	0		
primer 4	10 pmol/μl	0	1.0		
primer 5	10 pmol/μl	0	1.0		
primer 6	10 pmol/μl	0	1.0		
DNA		1.0	1.0		
Taq	1 U/μl	0.2	0.2		
<b>total</b>		<b>20</b>	<b>20</b>		

**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	163 bp WT (Map3k5)
primer 3	primer 2	ca 700 bp KI (Map3k5)
primer 4	primer 5	480 bp WT (Map3k15)
primer 4	primer 6	ca 850 bp KO (Map3k15)

**Comment** Standard PCR

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