

RBRC 05928

Strain name B6.Cg-Map3k5<tm1Hijo> Map3k6<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	Depositor' s primer
4	195S	ACTGGATCCACACCTTCAGC	20	Depositor' s primer
5	961AS	CAAGAGTCTGTGGGTGTAGCCT	22	Depositor' s primer
6	lacZ-R	CGCATCGTAACCGTGCATCTGCC	23	RIKEN BRC
7	mA3WT-f5	ATCGAGCTGAGCCCTGCAATCCTCGCCT	28	Depositor' s primer
8	mA3WT-asl2	GGGGGCAGCCTGCCCTGGGGC	21	Depositor' s primer
9	Neo30	TTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGA	30	Depositor' s primer

Reaction Components

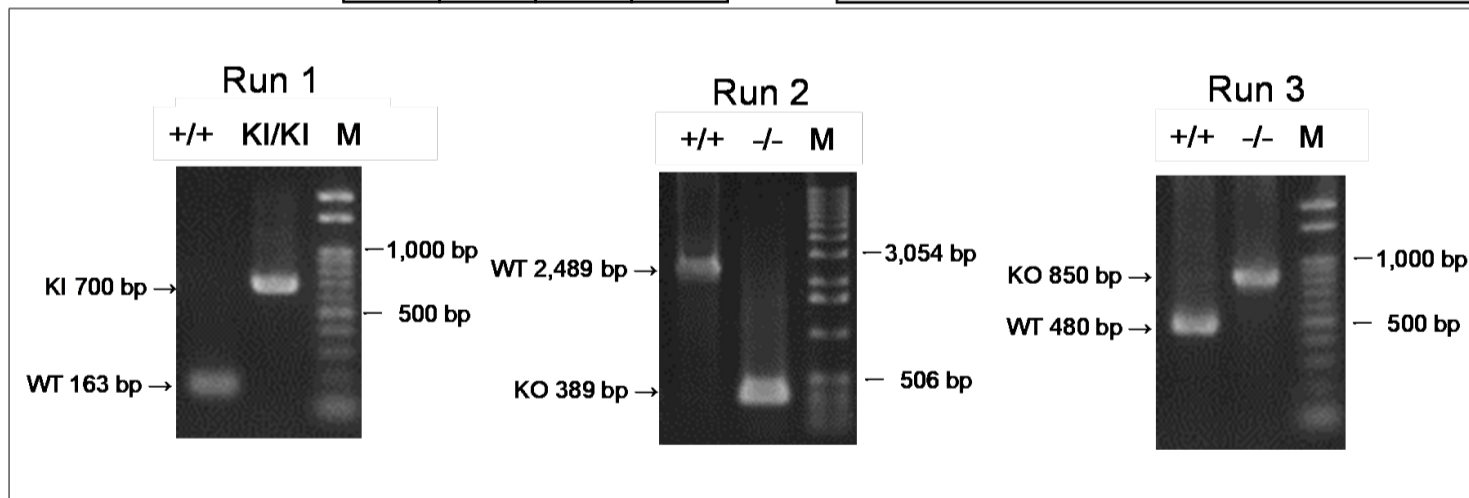
Enzyme TOYOBO KOD FX (Code.No : KFX-101)

Reaction Conditions

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

Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		1.8	1.8	1.8	
PCR buffer	2 X	10.0	10.0	10.0	
dNTP	2.0 mM	4.0	4.0	4.0	
primer 1,2,3	10 pmol/μl	3.0	0	0	
primer 4,5,6	10 pmol/μl	0	3.0	0	
primer 7,8,9	10 pmol/μl	0	0	3.0	
DNA		1.0	1.0	1.0	
Taq	1 U/μl	0.2	0.2	0.2	
total		20	20	20	

Marker marker Run1,3: Gene Ladder 100 (Wako, Cat. 316-06951), marker Run2: 1 kb DNA ladder (Invitrogen, Cat. 15615-024)
Gel Run1,3: 2 % agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min) Run2: 1 % agarose in 1 X TAE (100 V, 40 min)



primer_set	product_size	product (allele type)
primer 1	primer 2	163 bp WT (Map3k5)
primer 1	primer 3	700 bp KI (Map3k5)
primer 4	primer 5	2,489 bp WT (Map3k6)
primer 4	primer 6	389 bp KO (Map3k6)
primer 7	primer 8	480 bp WT (Map3k15)
primer 7	primer 9	850 bp KO (Map3k15)

Comment [Standard PCR](#)

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