PCR protocol

Sheet ID PS_05924
Release date : 9/28/2015
Print date : 9/28/2015

RBRC 06325 **Strain name** B6.Cg-Nfatc2<tm1Rao> Tob1<tm1Tya>

Primer	primer_name	primer_seq	length		
1	Tob-R	GTGGCTTCGCAGCTATGCAGCTTGA	25		Depositor's primer
2	Tob-F	ACCACTCTCTTTGGATGCCTGCTCG	25		Depositor's primer
3	3Neo	CGGCCACAGTCGATGAATCC	20		Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 13069-13074 (1997).
4		CAGCATCCCTGTGACTGCATC	21		Depositor's primer
5		TCCTCCTGTTGGGGCTTTG	19		Depositor's primer
6	5Neo	TGGATTGCACGCAGGTTCTC	20		Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 13069-13074 (1997).

Reaction Components

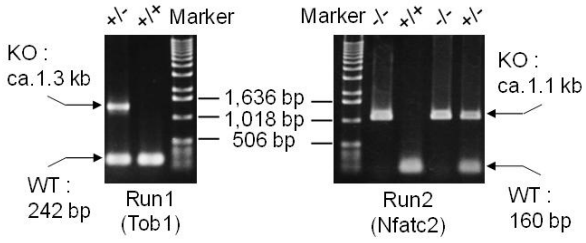
Enzyme TOYOBO KOD FX (Code.No : KFX-101)

	Conc	Run 1	Run 2	Run 3	Run 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		
	total	20	20		

Reaction Conditions

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

Standard PCR



Marker

1 kb DNA ladder (Invitrogen, Cat. 15615-024)

Gel

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

PCR products

primer_set		product_size	product
primer 1	primer 2	242 bp	WT(Tob1)
primer 2	primer 3	ca. 1.3 kb	KO(Tob1)
primer 4	primer 5	160 bp	WT(Nfatc2)
primer 4	primer 6	ca. 1.1 kb	KO(Nfatc2)

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