

RBRC 10291

Strain name B6.Cg-Itpr2<tm1Kmik> Itpr3<tm1Kmik>

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	mixF2	CCAGGAACAGGAAACCTACTTCTG	24	J. Physiol., 595.20, 6557–6568 (2017).
2	mixB2	AGAGACACGATGTCCCAATGTAG	24	J. Physiol., 595.20, 6557–6568 (2017).
3	mixZ2	GATGTGCTGCAAGGCGATTAAG	22	J. Physiol., 595.20, 6557–6568 (2017).
4	PIII#5	TCAGTCCTCTGCACCGAGCC	20	Depositor's primer
5	PIII#2	AAGCAAGCCTCTATCAAGG	19	Depositor's primer
6	Pgk-4	GTGGTTCTAAGTACTGTGGT	20	Depositor's primer

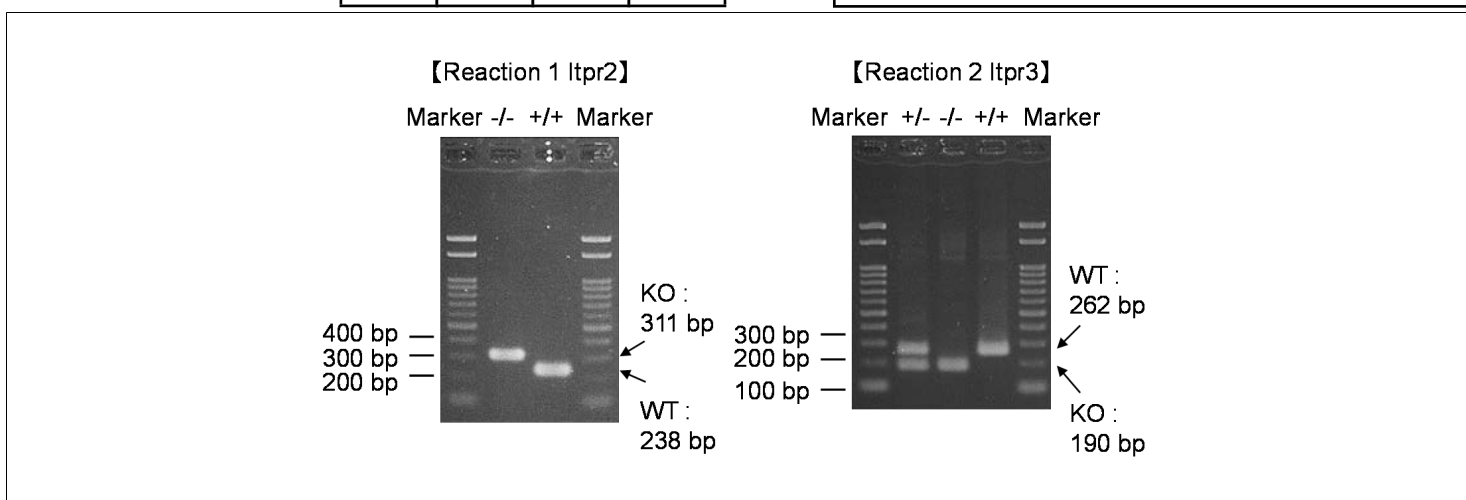
Reaction Components
Enzyme TOYOBO KOD FX (Code.No : KFX-101)

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
H ₂ O		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		

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	238 bp	WT (Itpr2)
primer 1 / primer 3	311 bp	KO (Itpr2)
primer 4 / primer 5	262 bp	WT (Itpr3)
primer 4 / primer 6	190 bp	KO (Itpr3)

Comment

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