

RMRC Genotyping Protocol-PCR

種 原 編 號	RMRC13049	品 系 名 稱	B6;C3H-Zbtb16 ^{7t}
---------	-----------	---------	-----------------------------

A. Primer

	Primer-name	Sequence	Length	Note
1	D9Mit99 primer 1	AACCCATGTAAAACGGTGGGA	20 bp	
2	D9Mit99 primer 2	CCAAGACATGAGAAATCTGTCTC	23 bp	
3	D9Mit171 primer 1	GGTTGCTCTTTTGTGTGTGTG	22 bp	
4	D9Mit171 primer 2	AGGTATGTAGACTCCTTACTCATCTGG	27 bp	

B. Reaction Components

Chemical	Conc.		Run1	Run2	Run3	Run4
H ₂ O	--		15.5 µl			
PCR buffer	10x		2 µl			
dNTP	10	mM	0.4 µl			
Primer 1	10	pmol/µl	0.5 µl			
Primer 2	10	pmol/µl	0.5 µl			
DNA	100 ng/µl		1 µl			
Tag	1	U/µl	0.1 µl			
Total			20 µl			

C. Reaction Conditions

Step	Temp.(°C)	Time(Sec)	Note
1	95	120	
2	94	40	35 cycle
3	55	30	35 cycle
4	72	20	35 cycle
5	72	600	
6			
7			

D. PCR product

	Primer set		Product size	Product
1	D9Mit99 primer1	D9Mit99 primer 2	178 bp (C3H/He) 184 bp (C57BL/6)	

2	D9Mit171 primer1	D9Mit171 Primer2	231 bp (C3H/He) 250 bp (C57BL/6)	
---	---------------------	---------------------	---------------------------------------	--

E. Gel photo