

RMRC Genotyping Protocol-PCR

種 原 編 號	RMRC13038	品 系 名 稱	FVB/N-Tg(PEPCK-Aurka)A122Tfts
---------	-----------	---------	-------------------------------

A. Primer

	Primer-name	Sequence	Length	Note
1	HS4 forward	cctccttgggcaacctgttcag	22 mers	
2	HS4 reverse	atgtggcactgagggacatggc	22 mers	

B. Reaction Components

Chemical	Conc.		Run1	Run2	Run3	Run4
H ₂ O	--		12.8 μl			
PCR buffer	10x		2 μl			
dNTP	2.5	mM	1.2 μl			
Primer 1	10	pmol/μl	1 μl			
Primer 2	10	pmol/μl	1 μl			
DNA	1~3 μg/μl		1 μl			
Tag		U/μl	1 μl			
Total			20 μl			

C. Reaction Conditions

Step	Temp.(°C)	Time(Sec)	Note
1	95	300	
2	95	30	Repeat 2~4 for 35 times
3	66.5	30	
4	72	40	
5	72	300	
6	4	---	
7			
8			

D. PCR product

	Primer set		Product size	Product
1	HS4 forward	HS4 reverse	622 bps	HS4 insulator
2				

E. Gel photo