β3 PCR Protocol

1x	Reagent	Master Mix				
8.5µl	Molecular Grade H2O		PCR/Gel Sample Order (96 Well Plate)			
12.5µl	GoTaqGreen Master Mix					
0.75µl	β3 5' primer [10μM]		1)	9)	17)	25)
0.75µl	β3 3' primer [10μM]		2)	10)	18)	26)
0.75µl	Lac Z 5' primer [10µM]		3)	11)	19)	27)
0.75µl	Lac Z 3' primer [10µM]		4)	12)	20)	28)
24.0µl	reagent volume per rxn		5)	13)	21)	29)
0.5µl	genomic DNA added		6)	14)	22)	30)
24.5µl	total volume per rxn		7)	15)	23)	31)
			8)	16)	24)	32)
	<u>Primers</u>	<u> </u>				
β3 5'	GGGCTCTCTCATO	GACCAAGG	33)	41)	49)	57)
β3 3'	GTATCTGATGGACTCAGAGGCC		34)	42)	50)	58)
Lac Z 5'	CACTACGTCTGAAG	35)	43)	51)	59)	
Lac Z 3'	B' CGGGCAAATAATATCGGTGGC		36)	44)	52)	60)
			37)	45)	53)	61)
Thermocycler Program			38)	46)	54)	62)
	(A7PCR)		39)	47)	55)	63)
	94 Hold 10 Minutes		40)	48)	56)	64)
	94 1 Minute	repeat				
	60 1 Minute	steps 2-4	65)	73)	81)	89)
	72 1 Minute	30 cycles	66)	74)	82)	90)
	72 Hold 7 Minutes		67)	75)	83)	91)
	4 Hold Forever		68)	76)	84)	92)
			69)	77)	85)	93)
<u>Band Sizes</u> WT 850 bp			70)	78)	86)	94)
			71)	79 <u>)</u>	87)	95)
Mut 600 bp			72)	80)	88)	96)
	Het 850 bp & 66	00 bp				