α3 GFP PCR Protocol

1x	Reagent	Master Mix				
10.75µl	Molecular Grade H2O		PCR/Gel Sample Order (96 Well Plate)			
12.5µl	GoTaqGreen Master Mix					
0.25µl	α3 GT F primer [50μM]		1)	9)	17)	25)
0.25µl	α3 GT R primer [50μM]		2)	10)	18)	26)
0.25µl	αXFP3' F primer [50μM]		3)	11)	19)	27)
24.0µl	reagent volume per rxn		4)	12)	20)	28)
0.5µl	genomic DNA added		5)	13)	21)	29)
24.5µl	total volume per rxn		6)	14)	22)	30)
			7)	15)	23)	31)
			8)	16)	24)	32)
	<u>Primers</u>	<u>.</u>				
α3GTF	CAACGTGCACTAC	AGAACTCC	33)	41)	49)	57)
α3GTR	GGACAACACAGC	34)	42)	50)	58)	
XFP3' F	GGATCACTCTCGG	CATGGACG	35)	43)	51)	59)
			36)	44)	52)	60)
			37)	45)	53)	61)
	Thermocycler Progra	am_	38)	46)	54)	62)
	(B2 GFP PCR)		39)	47)	55)	63)
	95 Hold 3 Minutes		40)	48)	56)	64)
	95 30 seconds	repeat				
	60 1 Minute	steps 2-4	65)	73)	81)	89)
	72 1 Minute	30 cycles	66)	74)	82)	90)
	72 Hold 10 Minutes		67)	75)	83)	91)
	4 Hold Forever		68)	76)	84)	92)
			69)	77)	85)	93)
	Band Sizes	<u>3</u>	70)	78)	86)	94)
	WT 323 bp		71)	79)	87)	95)
	Mut 218 bp	•	72)	80)	88)	96)
	Het 323 bp & 21	18 bp				