α4L9'A PCR Protocol

A5PCR

Temp °C RXN Time

1x	Reagent	Master Mix
10.5µl	Molecular Grade H2O	
12.5µl	GoTaqGreen Master Mix	
0.45µl	L9'A sense primer [25µM]	
0.225µl	Anti-sense primer [50µM]	
24.0µl	reagent volume per rxn	
0.5µl	genomic DNA added	
<u>24.5µl</u>	total volume per rxn	

PCR/Gel Sample Order (96 Well Plate)

1) _____	9) _____	17) _____	25) _____
2) _____	10) _____	18) _____	26) _____
3) _____	11) _____	19) _____	27) _____
4) _____	12) _____	20) _____	28) _____
5) _____	13) _____	21) _____	29) _____
6) _____	14) _____	22) _____	30) _____
7) _____	15) _____	23) _____	31) _____
8) _____	16) _____	24) _____	32) _____
33) _____	41) _____	49) _____	57) _____
34) _____	42) _____	50) _____	58) _____
35) _____	43) _____	51) _____	59) _____
36) _____	44) _____	52) _____	60) _____
37) _____	45) _____	53) _____	61) _____
38) _____	46) _____	54) _____	62) _____
39) _____	47) _____	55) _____	63) _____
40) _____	48) _____	56) _____	64) _____
65) _____	73) _____	81) _____	89) _____
66) _____	74) _____	82) _____	90) _____
67) _____	75) _____	83) _____	91) _____
68) _____	76) _____	84) _____	92) _____
69) _____	77) _____	85) _____	93) _____
70) _____	78) _____	86) _____	94) _____
71) _____	79) _____	87) _____	95) _____
72) _____	80) _____	88) _____	96) _____

94 :1:00min
 94 :30sec
 65 :30sec
 72 :1:00min
 go to 2 rep 1
 94 :30sec
 63 :30sec
 72 :1:00min
 go to 6 rep 1
 94 :30sec
 61 :30sec
 72 :1:00min
 go to 10 rep 1
 94 :30sec
 59 :30sec
 72 :1:00min
 go to 14 rep 1
 94 :30sec
 57 :30sec
 72 :1:00min
 go to 18 rep 1
 94 :30sec
 55 :30sec
 72 :1:00min
 go to 22 rep20
 72 7min
 4 hold ∞

Primers

L9'A sense CACACATGATCCAGAAACCAAG
 Anti-sense CAGGTGTTAGAATCATAGGGC

Thermocycler Program (α5PCR)

Band Sizes

WT 218 bp
 Mut 256 bp
 Het 218 bp & 256 bp