

A5 Congenic PCR Protocol

ATPCR

Temp °C RXN Time

1x	Reagent	Master Mix
6.5µl	Molecular Grade H2O	
12.5µl	GoTaqGreen Master Mix	
2.5µl	a5F primer [10µM]	
2.5µl	a5R primer [10µM]	
24.0µl	volume per rxn	
0.5µl	genomic DNA added	
<u>24.5µl</u>	total volume per rxn	

Primers

a5F CACTGTCACCTGGACGCAGCC
a5R GTTCCCCTTGCTCCCCATTGC

Taqα1 Restriction Endonuclease Digest 2hr Minimum at 37°C

1x	Reagent	MasterMix
12.5µl	Molecular H2O	
2µl	BamHI Buffer	
0.5µl	BamHi Restrict Enzyme	
15µl	Reagent Volume per rxn	
5µl	PCR Product Added	

Band Sizes
DBA 220 bp
C3H 109 bp
Het 220 bp & 109 bp

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) _____

95	1:00min
95	: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	rep22
72	7min
4	hold ∞