



DNA133 – MEM531T1 PCR to Confirm Genotypes for F1 Hets

Reaction Components	Vol (ul)
10X Sigma Buffer	5
25mM MgCl ₂	3.5
10mM dNTPs	2
LTR2 Primer	1.5
MEM531 3' Primer	1.5
5 U/ul Taq polymerase	0.5
Water	31
Total mix volume	45
Tail lysate (1:20 dilution)	5
Total reaction volume	50

Cycling Conditions: Touchdown

Step	Temp	Time	Note
1	94C	10'	
2	94C	15"	
3	65C	30"	Decrease 1C/cycle
4	72C	30"	Go to 2, 10 cycles
5	94C	15"	
6	55C	30"	
7	72C	30"	Go to 5, 30 cycles
8	72C	5'	

Primer sequences (5' to 3'):

LTR2	AAATGGCGTTACTTAAGCTAGCTTGC
MEM531T1 3'	TTGACGGGGATAAAAAGCGTT

Well	Sample	Genotype
1	22	het
2	24	het
3	29	het
4	30	het
5	37	het
6	39	het
7	40	het
8	41	het
9	wt lysate	wt
10	ES DNA	het
11	water	no amp

