

## NIH-0129 Genotyping Strategies

Reaction Components	Vol (ul)
10X Sigma Buffer	5
25mM MgCl <sub>2</sub>	3.5
10mM dNTPs	2
Primer 20 uM	1.5
Primer 20 uM	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

Step	Temp	Time	Note
1	95C	30"	
2	58C	30"	
3	72C	45"	Go to 1, 39 cycles

Primer Sequences (5' to 3')	
Mutant PCR: Primer puro out and Primer 0129-7, 272 bp	
Recommended Wt PCR: Primer 0129-3 and Primer 0129-2, 507 bp	
Primer puro out	GGATTGGGAAGACAATAGCAGG
Primer 0129-7	CTTGGCAGAGTACATCTCAG
Primer 0129-3	CAGCTGCATGCGGCGATCAC
Primer 0129-2	CATGCGTGCGTTGAAT

Well	Sample	Genotype
1	11	het
2	12	het
3	13	het
4	14	wt
5	ES DNA	het
6	wt lysate	wt
7	water	no amp

### Mutant PCR

