

RBRC 05765

Strain name B6.Cg-H2az1<tm1.1Hko> H2az2<tm1.1Hko>

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	Z1-lox_Fw	CGCCTTGGTAATTCTATCTTCTCC	24	Depositor's primer
2	Z1-lox_Rv	CGCCAGTTAACACACATGTGATC	23	Depositor's primer
3	H2AZ-1 delta FRT/R	CCCTCACGACCAGATCCACAAG	22	Depositor's primer
4	Z2-frt_Fw	GCCTCCAACTACAAATGCTC	20	Depositor's primer
5	Z2-frt_Rv	GGACAACAGAGTTTCACTGTAAAATC	26	Depositor's primer
6	Z2-lox_Rv	GGCTCTGAATTCCCAATGTAG	21	Depositor's primer

Reaction Components

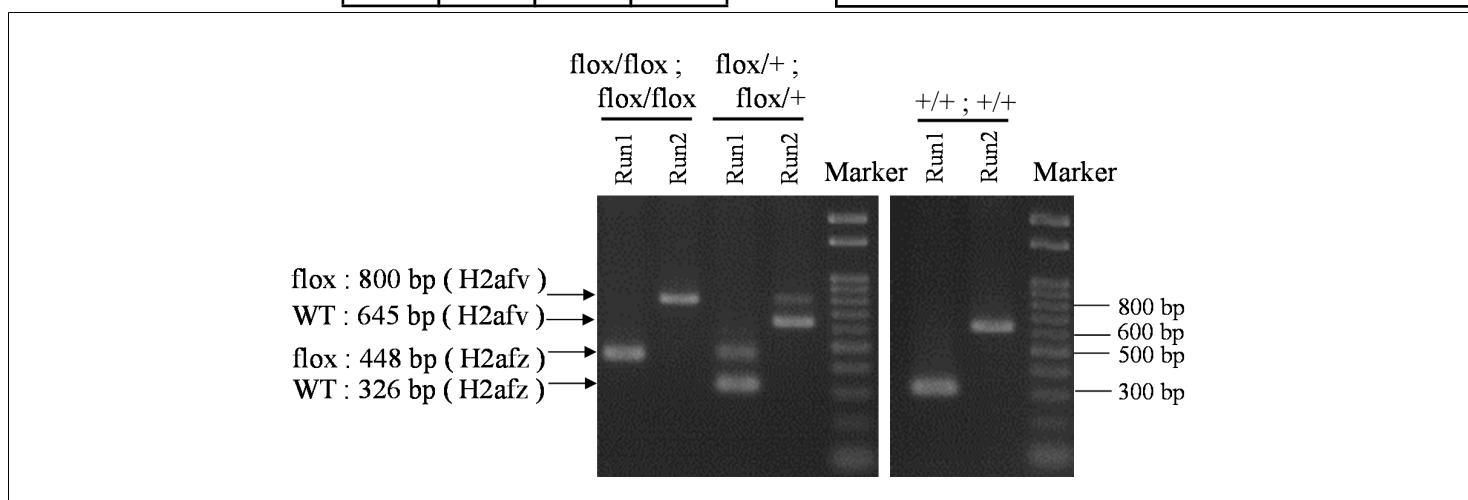
Enzyme	TOYOBO KOD FX (Code.No : KFX-101)
--------	-----------------------------------

Reaction Conditions

step	temp (°C)	time (sec)	note
1	94	120	
2	98	10*	
3	60	30*	
4	68	120*	*Repeat for 30 cycles

Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		1.8	1.8		
PCR buffer	2 X	10.0	10.0		
dNTP	2.0 mM	4.0	4.0		
primer 1	10 pmol/ μ l	1.0	0		
primer 2	10 pmol/ μ l	1.0	0		
primer 3	10 pmol/ μ l	1.0	0		
primer 4	10 pmol/ μ l	0	1.0		
primer 5	10 pmol/ μ l	0	1.0		
primer 6	10 pmol/ μ l	0	1.0		
DNA		1.0	1.0		
Taq	1 U/ μ l	0.2	0.2		
total		20	20		

Marker	Gene Ladder 100 (Wako, Cat. 316-06951)
Gel	2% agarose in 1 X TAE (100 V, 30 min)



primer_set	product_size	product (allele type)
primer 1	primer 2	326, 448 bp
primer 1	primer 3	ca.1.4 kbp
primer 4	primer 5	645, 800 bp
primer 4	primer 6	ca. 550 bp

Comment

Novagen KOD Xtreme™ Hot Start DNA Polymerase can be purchased from EMD.

RBRC 05765

Strain name B6.Cg-H2az1<tm1.1Hko> H2az2<tm1.1Hko>

Primer	primer_name	primer_seq	length	Reference
1	Z1-lox_Fw	CGCCTTGGTAATTCTATCTTCTCC	25	Depositor's primer
2	Z1-lox_Rv	CGCCAGTTAACACACATGTGATC	24	Depositor's primer
3	H2AZ-1 delta FRT/F	GATTTTCAGTACAGGGTGCTTTCATG	25	Depositor's primer
4	H2AZ-1 delta FRT/R	CCCTCACGACCAGATCCACAAG	22	Depositor's primer
5	Z2-frt_Fw	GCCTCCAACTACAAATGCTC	21	Depositor's primer
6	Z2-frt_Rv	GGACAACAGAGTTTCACTGTAAAATC	27	Depositor's primer
7	Z2-lox_Fw	GCCTCAGATCATCCAGTC	18	Depositor's primer
8	Z2-lox_Rv	GGCTCTGAATTCCCAATGTAG	21	Depositor's primer

Reaction Components

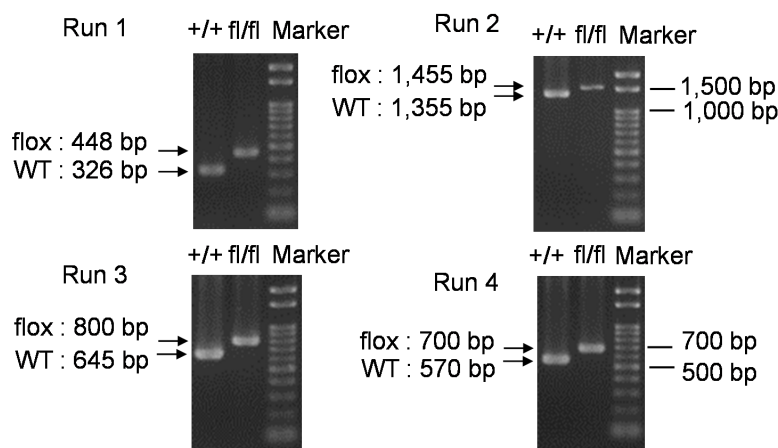
Enzyme	TaKaRa Ex Taq (Cat. No. RR001A)
--------	---------------------------------

Reaction Conditions

step	temp (°C)	time (sec)	note
1	94	180	
2	94	30*	
3	60	30*	
4	72	60*	*Repeat for 30 cycles
5	72	300	

Reagent	Conc	Reaction 1	2	3	4
H2O		13.3	13.3	13.3	13.3
PCR buffer	10 X	2.0	2.0	2.0	2.0
dNTP	2.5 mM	1.6	1.6	1.6	1.6
primer 1	10 pmol/ μ l	1.0	0	0	0
primer 2	10 pmol/ μ l	1.0	0	0	0
primer 3	10 pmol/ μ l	0	1.0	0	0
primer 4	10 pmol/ μ l	0	1.0	0	0
primer 5	10 pmol/ μ l	0	0	1.0	0
primer 6	10 pmol/ μ l	0	0	1.0	0
primer 7	10 pmol/ μ l	0	0	0	1.0
primer 8	10 pmol/ μ l	0	0	0	1.0
DNA		1.0	1.0	1.0	1.0
Taq	5 U/ μ l	0.1	0.1	0.1	0.1
total		20	20	20	20

Marker	Gene Ladder 100 (Wako, Cat. 316-06951)
Gel	2% agarose in 1 X TAE (100 V, 40 min)



primer_set	product_size	product (allele type)
primer 1	primer 2	326, 448 bp
primer 3	primer 4	1355, 1455 bp
primer 5	primer 6	645, 800 bp
primer 7	primer 8	570, 700 bp

Comment