

Date:

Experiment: MYKO-PCR

SAMPLE NUMBER COMPONENT																				
Zell üs bzw Positivk.	2																			
10 x Buffer	5																			
Invitrogen																				
50 mM MgCl ₂	3,25																			
5 mM dNTPs	1																			
Primer 1 Myko A	0,8																			
10pMol/µl																				
Primer 2 Myko B	0,8																			
10pMol/µl																				
Interne Kontr.	0,5																			
Taq Pol	0,5																			
Invitrogen																				
H ₂ O up to 50µl	36,15																			

Conditions/PCR machine : PCR 1

2 min 94°, 2 min 57°, 2 min 72°, danach 34 Cyclen :

Denat.: 30" 92° Anneal.: 1' 57° Ext.: 1' 72° Cycle no.: 34; 4' 72°-> 4°C

Anmerkungen:

- Mix (48µl) s.o vorbereiten,dann 2µl Zellüs bzw.Positivkontr. dazugeben,das Ganze mit 1 Tropfen Öl überschichten
- Zellen 7 Tage ohne Antibiotikum in Kultur halten;üs kann bei -20° C gelagert werden
- 100 µl Zellüs 5 min aufkochen,Eis ,anzentr.,2µl direkt in PCR einsetzen

Primersequenzen: MycoA: 5'-CAC CAT CTG TCA CTC TGT TAA CC-3'
MycoB : 5'-GGA GCA AAC AGG ATT
AGA TAC CC-3'