

Protocol
1. 样品消化

1.1. 将昆虫，组织，鱼尾的部分 (~2mm)，在 75 μ L 裂解缓冲液中加入 0.75 μ L 蛋白酶 K 溶液消化，56°C 下 15 分钟。然后，将混合溶液在 95°C 下孵育 10 分钟至 1 小时（未溶解的组织不干扰 PCR）。

蛋白酶 K: 10mg / ml 储存溶液，消化前以 1: 100 的比例稀释于裂解缓冲液中。

1.2. 对于在培养皿中培养的贴壁细胞，用 PBS 洗涤细胞，胰酶消化后收集。对于悬浮细胞或血细胞，只需取出一些细胞进行基因分型。将细胞在 75 μ L 裂解缓冲液中 95°C 裂解 10 分钟至 1 小时。

2. 加热后，将样品冷却至 4°C，并向每个样品添加 75 μ L 平衡缓冲液。

3. 每 20 μ L PCR 体积使用 1 μ L 的最终溶液作为模板。（您可以调整适当的上样量以及 PCR 体系。）

PCR 反应组分:

PCR 反应组分	20 μ L 反应体系	50 μ L 反应体系
ddH ₂ O	补足至 20 μ L	补足至 50 μ L
Forward Primer (10 μ M)	0.8 μ L	2 μ L
Reverse Primer (10 μ M)	0.8 μ L	2 μ L
Template	合适的量	合适的量
2 x PCR Master Mix (With Dye)	10 μ L	25 μ L

PCR 循环过程

程序	温度(°C)	时间	循环
预变性	94	5min	1
变性	94	30sec	35(可调)
退火	50-60	30sec	
延伸	72	60sec/kb	
终延伸	72	10min	1
储存	12	合适的时间	1

4. 将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳并获得结果（我们的产品 SYBR Safe DNA Gel Stain 供您选择）。

注意:

- 对于每一实验步骤，确保试剂在使用前充分混合。
- 在消化步骤中，摇动管子数次将有助于基因组 DNA 的释放。
- 对于大多数组织样品，在 56°C 下用蛋白酶 K 孵育 15 分钟就足以提取基因组 DNA。组织可能看起来仍然完好无损，但裂解已经发生了。
- 获得的基因组 DNA 可应用于 PCR 扩增。若不立即使用，可以将样品离心收集上清，储存在 -20°C 保存。