

Protocol

1. 小鼠尾巴，脚趾或耳朵（~2mm），在含有 0.75 μL 蛋白酶 K 的 75 μL 裂解缓冲液中消化，56 $^{\circ}\text{C}$ 下 15 分钟。然后，将混合溶液在 95 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 分钟至 1 小时（未溶解的组织不干扰 PCR）。
2. 加热后，将样品冷却至 4 $^{\circ}\text{C}$ ，并向每个样品添加 75 μL 平衡缓冲液。
3. 每 20 μL PCR 反应体系使用 1 μL 的最终溶液作为模板。（您可以调整适当的上样量。）

PCR 反应组分：

PCR 反应组分	20 μL 反应体系	50 μL 反应体系
ddH ₂ O	补足至 20 μL	补足至 50 μL
Forward Primer (10 μM)	0.8 μL	2 μL
Reverse Primer (10 μM)	0.8 μL	2 μL
Template	1 μL	2.5 μL
2 x PCR Master Mix plus (With Dye)	10 μL	25 μL

PCR 循环过程

Procedure	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Time	Cycles
Initialization	98	1 min	1
Denaturation	98	15 sec	30-35(Adjustable)
Annealing	55-58	15 sec	
Extension	72	15 - 30sec per kb	
Final elongation	72	2 min	1
Final hold	4	Appropriate time	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 货号 A8743 供您选择）。

注意：

1. 对于每一实验步骤，确保试剂在使用前充分混合。
2. 在消化步骤中，摇动管子数次将有助于基因组 DNA 的释放。
3. 对于大多数小鼠组织样品，在 56 $^{\circ}\text{C}$ 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。
4. 获得的基因组 DNA 应立即应用于 PCR 扩增。长期储存可能会导致不可靠的 PCR 扩增结果。