

## NaOH DNA Extraction.

### 1. Lysis

Collect cells and add 80ul (per  $0.5-1.0 \times 10^6$  cells, or 500ul of confluent cell suspension) of 50mM NaOH.

Completely resuspend and incubate at 95°C for 1 hour.

### 2. Neutralization

Add 20ul of 1.0M Tris-HCl (pH 6.8) and vortex.

Store at 4°C.

### 3. PCR Amplification

Perform PCR amplification using GO-Taq polymerase and verify band size by electrophoresis.

Mix the reagents as follows:

Sample	1
GO-Taq	6
F-primer (20uM)	0.12
R-primer (20uM)	0.12
MQ	4.76

Perform PCR amplification according to the following program.

1	95oC	150 x	1
2	95oC	60	
	57oC	60	
	72oC	60 x	30
3	72oC	600 x	1

\*At the start of PCR amplification, place the sample tubes directly on a plate preheated to 95oC.

Perform the gel electrophoresis.

NaOH DNA 抽出。

1. 溶解

細胞を回収し、80ul (0.5-1.0×10<sup>6</sup>細胞当たり、または、コンフルエント細胞懸濁液 500ul) の 50mM NaOH を加える。

完全に懸濁し、95°Cで1時間インキュベートする。

2. 中和

20ul の 1.0M Tris-HCl (pH6.8) を加え、ボルテックスする。

4°Cで保存する。

3. PCR 増幅

GO-Taq ポリメラーゼを用いて PCR 増幅を行い、電気泳動でバンドサイズを確認する。

以下のように試薬を混合する：

Sample	1
GO-Taq	6
F-primer (20uM)	0.12
R-primer (20uM)	0.12
MQ	4.76

以下のプログラムに従って PCR 増幅を行う。

1	95oC	150 x	1
2	95oC	60	
	57oC	60	
	72oC	60 x	30
3	72oC	600 x	1

\*PCR 増幅開始時、サンプルチューブを 95°Cに予熱したプレート上に直接置く。

ゲル電気泳動を行う。