

# 酵母基因组菌落 PCR 试剂盒 使用说明书

保存条件：-20 °C 储存，未开封有效期 24 个月。

包装内容：

产品内容	SK2422-20T	SK2422-100T
快速裂解液	200 $\mu$ L	1 mL
PCR Mix	1 mL	1 mL $\times$ 5
pAbAiF & pAbAiR 引物混合物（免费提供）	20 $\mu$ L	100 $\mu$ L
说明书	1 份	

产品说明：

Coolaber 出品的酵母基因组菌落 PCR 试剂盒用于酿酒酵母菌落 PCR 直接扩增实验。无需加热、冷冻、离心等裂解或纯化步骤，菌落经快速裂解液简单处理后即可作为 PCR 模板使用。

本产品主要用于酵母单杂 pAbAi 质粒重组基因组后的鉴定实验，同时提供 PCR Mix 以及通用引物混合物，无需额外准备，可快速高效完成 PCR 扩增，产物可用于 DNA 测序。本试剂盒提供引物扩增空载 pAbAi 的产物为 280 bp，引物序列可向本公司咨询索取。本产品亦适用于其它重组酵母菌的 PCR 检测实验。如需检测的样品为游离质粒而非基因组重组质粒，建议使用本公司阳性克隆检测试剂盒（SK2420）进行 PCR 扩增。

操作步骤：

1. 准备 PCR 预混液：根据检测克隆数，等比例扩大配制体积。

试剂	50 $\mu$ L 反应体系
PCR Mix	44 $\mu$ L
pAbAiF & pAbAiR 引物混合物 (或其它上下游引物)	1 $\mu$ L (各 0.5 $\mu$ L)

2. 吸取 5  $\mu$ L 酵母快速裂解液加入 PCR 管中。

3. 用无菌牙签或 10  $\mu$ L 枪头刮取适量酵母菌落（直径 1-2 mm）悬浮在裂解液中。

4. 吹打或者震荡混匀后室温静置 5 min。即为裂解产物。

**注意：** 大于 2000 bp 的基因片段作为 Bait，建议将裂解产物再于 -20 °C 冷冻 10 min 或 -80 °C 速冻 1 min，可有效提高 PCR 产率。

5. 在裂解产物中加入 45  $\mu$ L PCR 预混液（含引物），PCR 扩增。

PCR 反应条件：

反应温度	反应条件	循环
98 $^{\circ}$ C	10 sec	30
55 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	2 min	
72 $^{\circ}$ C	10 min	1

注意事项：

1. 菌落 PCR 前，先刮取部分菌落保存，可以有效避免样品污染和丢失。
2. 新鲜菌落的 PCR 成功率接近 100%。如生长期较长的菌落，请先进行预实验。

相关产品：

产品名称	货号	产品名称	货号
酵母阳性克隆快速检测 Kit（单双杂筛库）	SK2420	YPDA Medium	PM2011
酵母基因组菌落 PCR Kit（单杂诱饵检测）	SK2422	YPDA Agar Medium	PM2021
酵母菌落快速转化 Kit（一步法）	SK2390	酵母蛋白提取 Kit	SK2440
经典酵母转化 Kit	SK2400	金担子素 A	CA2332
酵母质粒提取 Kit	SK2410	2.5 M 3-AT 溶液(过滤除菌)	SL0930
快速酵母质粒提取 Kit	SK2411	X- $\alpha$ -gal 溶液（20 mg/ml，过滤除菌）	SL0940
Super 酵母感受态制备与转化 Kit	SK2401	Super 酵母感受态制备与转化 Kit Plus	SK2402

注：更多筛选培养基及相关产品详见 [www.coolaber.com](http://www.coolaber.com)