



版本号: DE241111

Yeast Rapid Lysis Buffer

酵母快速裂解液

产品编号: SK2420-A

产品规格: 500 μ L / 2 $\times$ 1 mL

运输及储存条件: 蓝冰运输; -20 $^{\circ}$ C 储存, 保质期 2 年。

产品说明:

本产品为酵母阳性克隆快速检测试剂盒(筛库)(SK2420)中组分, 用于酵母转化或者文库筛选后菌落 PCR 鉴定。无需提取质粒等繁琐的操作步骤, 菌落经酵母快速裂解液简单处理后即可作为 PCR 模板使用。仅需酵母专用 PCR Mix (SK2420-B) 以及 AD 引物混合物 (SK2420-C), 再无需其它试剂, 便可快速高效完成 PCR 扩增, 产物可用于测序分析, 测序可以用 T7 或 3'AD。

AD 引物混合物为 AD 质粒通用引物, 序列如下:

T7: TAATACGACTCACTATAGGG

3'AD: GTGAACTTGCGGGGTTTTTCAG

注意事项:

1. PCR Mix 和引物需要自备。
2. 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。
3. 建议先取 3-5 个克隆进行预实验后再进行批量实验。
4. 如果扩增失败或者弥散, 请用 1/2 菌落进行裂解, 并将程序中的裂解步骤 37 $^{\circ}$ C 孵育时间延长至 60 min。
5. 部分样品经过多次 PCR 都无法检测成功。建议用一步法酵母质粒提取试剂盒 (PE055) 提取 (约需 30 min), 再进行 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 μ L 反应体系
酵母专用 PCR Mix (2 $\times$) (自备)	25 μ L
AD 引物混合物 (自备)	1 μ L
无菌 ddH ₂ O	19 μ L



2. 吸取 10 μ L 酵母快速裂解液加入 PCR 管中。
3. 用无菌牙签或 10 μ L 枪头刮取少量酵母菌落（直径 1-2 mm，刮取 1/4 即可）悬浮在裂解液中。
4. 吹打或者震荡混匀，于 PCR 仪中 37°C 孵育 30 min，98°C 10 min，4°C 保存。

注意：建议 37°C 孵育 10 min 后，震荡 PCR 管使沉淀下去的菌体重悬，提高裂解效率。孵育时间可以设置为 15-60 min。

5. 用桌面离心机（4,000-7,500 rpm 均可）离心 30 s，上清即可作为 PCR 的模板。

6. 取 5 μ L 上清加入 45 μ L 上述 PCR 预混液中，进行 PCR 扩增。

PCR 反应条件：

反应温度	反应时间	步骤
98°C	3 min	1
98°C	10 s	2
60°C	30 s	3
72°C	1 min (15-30 s/kb)	4, goto 2, 35 cycles
72°C	5 min	5
4°C	Hold	6

7. 取 5 μ L PCR 产物进行电泳检测。