



版本号：DE241111

Y1H Primer Y1H 引物混合物

产品编号：SK2422-G

产品规格：100 μ L

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：

本产品为酵母基因组菌落 PCR 试剂盒（单杂诱饵检测）（SK2422）中组分，用于酵母单杂 pAbAi 质粒重组基因组后的 PCR 鉴定。无需提取基因组等繁琐的操作步骤，菌落经酵母快速裂解液（单杂诱饵检测）（SK2422-A）简单处理后即可作为 PCR 模板使用。仅需高保真 PCR Mix（SK2422-B），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 pAbAi-F 或者插入片段的特异性引物。

Y1H 引物混合物中的上游引物为 Y1HGold 基因组引物（未公开序列），下游引物为 pAbAi 质粒通用引物 pAbAi-F（GCTCCTTCCTTCGTTCTTCCTTC），扩增空载 pAbAi 重组 Y1HGold 的产物为 1346 bp。

注意事项：

1. PCR Mix 和酵母快速裂解液需要自备。
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. 新鲜菌落的 PCR 成功率极高。如生长期较长的菌落，请先进行预实验。
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。

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
高保真 PCR Mix (2 $\times$) (自备)	25 μ L
Y1H 引物混合物	1 μ L
无菌 ddH ₂ O	19 μ L

2. 吸取 10 μ L 酵母快速裂解液（自备）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。