



# 酵母阳性克隆快速检测试剂盒

2023 年第二版

产品编号: SK2420

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	SK2420-20T	SK2420-50T	SK2420-200T
酵母快速裂解液	200 $\mu$ L	500 $\mu$ L	1 mL $\times$ 2
酵母专用 PCR Mix (2 $\times$ )	500 $\mu$ L	1.25 mL	1.25 mL $\times$ 4
AD 引物混合物	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	200 $\mu$ L
说明书		1 份	

产品说明:

本产品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, 菌落经快速裂解液简单处理后即可作为 PCR 模板使用。本试剂盒提供的酵母专用高保真 PCR Mix 和 AD 引物混合物, 可快速而高效完成 PCR 扩增, 产物可用于测序分析, 测序可以用 T7 或 3'AD。

AD 引物混合物序列如下:

T7: TAATACGACTCACTATAGGG

3'AD: GTGAACTTGCGGGGTTTTTCAG

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
酵母专用 PCR Mix (2 $\times$ )	25 $\mu$ L
AD 引物混合物	1 $\mu$ L
无菌 ddH <sub>2</sub> O	19 $\mu$ L



2. 吸取 10  $\mu$ 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  $\mu$ L 上清加入 45  $\mu$ 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  $\mu$ L PCR 产物进行电泳检测。

**注意:**

1. 建议先取 3-5 个克隆进行预实验后再进行批量实验。
2. 本产品同样适用于菌液 PCR。
3. 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。