

酵母基因组菌落 PCR 试剂盒说明书

● 产品规格和内容：

包装名称	货号	包装含量	保存条件/时间
酵母基因组菌落 PCR 试剂盒	CAT# : YCK1030S	50T	-20℃ / 24 个月
酵母基因组菌落 PCR 试剂盒	CAT# : YCK1030M	100T	-20℃ / 24 个月

● 产品组分：

产品组分	YCK1030S	YCK1030M
酵母裂解液 I	500ul	1ml
Taq PCR Mix (2X, with Blue Dye)	500ul	1ml
URA-99F Primer(Y1HGold-pABAI 鉴定用)	40ul (10 μM)	80ul (10 μM)
URA-178F Primer(Y1HGold-pABAI 鉴定用)	40ul (10 μM)	80ul (10 μM)
AUR-47R Primer(Y1HGold-pABAI 鉴定用)	40ul (10 μM)	80ul (10 μM)

● 产品说明

酵母基因组菌落 PCR 试剂盒可用于酵母基因组 DNA 的菌落 PCR 试验，包括 Y1HGold 酵母单杂系统的 pABAI 质粒重组入 Y1HGold 基因组后的 PCR 鉴定。酵母基因组菌落 PCR 试剂盒提供酵母细胞裂解液、PCR Mix、和 pABAI 鉴定用引物，酵母细胞的裂解仅需十分钟即可完成，操作简单、快速，扩增效率高。本试剂盒适用于 Y1HGold、AH109、Y187、Y2HGold、EGY48、NMY51、INVSC1、R5421、Mav203 等几乎所有酿酒酵母的基因组菌落 PCR 试验。

● 操作方法

一，酵母细胞的裂解

取 10ul 酵母裂解液 I 加入 PCR 薄壁管中，无菌牙签或枪头挑一点菌落加入裂解液中（挑取菌量不可过多，以重悬后裂解液稍微变色为宜），吹打混匀，盖好薄壁管，放 PCR 仪中 95 度处理 10min 即可。

二，PCR 反应体系的配制

组分	体积
Taq PCR Mix (2X, with Blue Dye)	10ul
步骤一处理好的：酵母细胞裂解液	2ul
F/R Primer (10 μM)	0.8ul / 0.8ul
ddH2O	补加到 20ul

三，参考 PCR 扩增程序与参数

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94 °C	4 min	1
变性	94 °C	30 S	35
退火	55 °C	30 S	35
延伸	72 °C	X (延伸速度：1kb/30s)	35
延伸	72 °C	5 min	1

四，Y1HGold-pABAI 鉴定用引物备注

引物对	Y1HGold-pABAI 空载鉴定产物长度	Y1HGold-pABAI-gene 鉴定产物长度
URA-99F/AUR-47R	1350bp	1350bp+连入基因长度
URA-178F/AUR-47R	1429bp	1429bp+连入基因长度

● 注意事项

1. 酵母细胞裂解时挑取菌量不可过多，以重悬后裂解液稍微变色为宜，加入酵母过多会降低 PCR 扩增效率。
2. PCR 退火温度可在 54°C-60°C 范围浮动，若扩增不出条带或条带较弱可降低退火温度，若有杂带可提高退火温度。
3. 部分 DNA 片段含有复杂结构或 GC/AT 含量较高，PCR 扩增较难，可提高 PCR 扩增体系至 50ul。
4. 若对 PCR 产物有测序要求，客户可自备高保真 PCR 酶进行扩增或自备相关 PCR 引物进行扩增。