

酵母菌落 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
酵母菌落 PCR 试剂盒	CAT# : YCK1020S	50T	-20°C / 24 个月
酵母菌落 PCR 试剂盒	CAT# : YCK1020M	200T	-20°C / 24 个月

● 产品组分:

产品组分	YCK1020S	YCK1020M	引物序列
酵母裂解液 I	500ul	1ml X 2 管	-----
Taq PCR Mix (2X, with Blue Dye)	500ul	1ml X 2 管	-----
T7 Primer	40ul (10 μ M)	160ul (10 μ M)	5' TAATACGACTCACTATAGGGC 3'
5' AD Primer	40ul (10 μ M)	160ul (10 μ M)	5' GATGAAGATACCCCAACCAACC 3'
3' AD Primer	40ul (10 μ M)	160ul (10 μ M)	5' GCGGGGTTTTTCAGTATCTACG 3'

● 产品说明

酵母菌落 PCR 试剂盒用于酵母质粒转化或互作筛库试验后的平板菌落 PCR 鉴定实验, 提供酵母细胞裂解液、PCR Mix、和部分酵母鉴定用引物, 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 AH109、Y187、Y2HGold、Y1HGold、EGY48、NMY51、INVSC1、R5421、Mav203 等几乎所有酿酒酵母的菌落 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 μ M)	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
最后一步延伸	72 °C	5 min	1

四，pGADT7 鉴定用引物备注

引物对 / 引物	用途	pGADT7 空载 鉴定产物长度	pGADT7-gene 鉴定产物长度
5' AD/3' AD	扩增 pGADT7 质粒	203bp	203bp+连入基因长度
T7 Primer	可对 5' AD/3' AD 扩增片段测序		

● 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。