



版本号：DE241111

Quick Yeast positive clone assay Kit 酵母阳性克隆快速检测试剂盒（筛库）

产品编号：SK2420

产品内容：

产品货号	产品组分	20 T	50 T	200 T	储存温度
SK2420-A	酵母快速裂解液	200 μ L	500 μ L	1 mL \times 2	-20 $^{\circ}$ C
SK2420-B	酵母专用 PCR Mix (2 \times)	500 μ L	1.25 mL	1.25 mL \times 4	-20 $^{\circ}$ C
SK2420-C	AD 引物混合物	20 μ L	50 μ L	200 μ L	-20 $^{\circ}$ C

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



产品介绍：

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 引物混合物为 AD 质粒通用引物，序列如下：

T7: TAATACGACTCACTATAGGG

3'AD: GTGAACTTGCGGGGTTTTTCAG

注意事项：

1. 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。
2. 建议先取 3-5 个克隆进行预实验后再进行批量实验。
3. 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°C 孵育时间延长至 60 min。
4. 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)	25 μ L
AD 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 2-3 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 μL 上清加入 45 μL 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 μL PCR 产物进行电泳检测。