



## 酵母阳性克隆快速鉴定试剂盒

Cat.NO. ZC221A

### 试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	ZC221A - 1 (20次)	ZC221A - 2 (200次)
酵母质粒快速提取液	0.5ml	5×1 ml
2× Taq PCR MasterMix	0.5ml	5×1 ml
说明书	1份	1份

储存：产品 -20℃保存，有效期 1 年。

### 产品介绍：

本试剂盒通过快速简易提取适用于 PCR 的酵母质粒, 并结合高效 PCR MasterMix 扩增试剂的扩增, 实现快速高效鉴定酵母阳性克隆或获得的 PCR 产物用于测序分析。

### 操作步骤：

#### 一、酵母质粒提取

1. 吸取 20 $\mu$ l 的酵母质粒快速提取缓冲液放入 1.5ml 的离心管中。
2. 用无菌枪头挑取长度 1~2mm 的酵母菌悬浮在装有缓冲液的离心管中。
3. 在 95℃ 的水浴锅或者金属浴中煮 5min-10min。
4. 冰上放置 2min, 常温条件下 12000rpm, 离心 5min, 吸取上清移至新的离心管。得到的质粒可用于 PCR 分析。

#### 二、PCR 扩增目的条带

建议每 20 $\mu$ l PCR 反应体系加入 1 $\mu$ l 酵母质粒提取液, 40 个 PCR 循环数。

#### PCR 反应体系：

试剂	20 $\mu$ l 反应体系	终浓度
2× Taq PCR MasterMix	10	1×
Primer F, 10 $\mu$ M	0.5	0.25 $\mu$ M
Primer R, 10 $\mu$ M	0.5	0.25 $\mu$ M
Template DNA	1	< 1 $\mu$ g/reaction
ddH <sub>2</sub> O	up to 20 $\mu$ l	--



## PCR 反应条件：

2×Taq MasterMix		
反应温度	反应条件	循环
94 °C	5 min	1
94 °C	20 sec	40
T <sub>M</sub> °C	20 sec	
72 °C	2 kb/min	
72 °C	3 min	1
25 °C	+ ∞	1

## 注意事项：

1. 建议提取酵母质粒前先把酵母克隆在平板上划 1cm 左右的短线，生长 2-3 天后，挑取 1~2mm 的酵母菌用做质粒提取。
2. 可根据酵母菌的多少适当增加或减少酵母质粒提取缓冲液的使用量。
3. 未使用的酵母质粒建议放在 4 °C 冰箱保存。
4. 如 PCR 结果不是很理想，建议将质粒梯度稀释作模板。
5. 在水浴之后放 -80°C 或 -20°C 冷冻后重复水浴一次，再离心取上清也会提高 PCR 产率。PCR 反应体系可以比例扩大，但模板体积不应超过总体积的 1/10。

# ZOMANBIO