

DirectAmp Yeast Colony PCR Kit



北京艾德莱生物科技有限公司
Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

地址：北京市海淀区上地紫成创业园 C126--130

电话：010-82796972/82795296 (Fax)

网址：www.aidlab.cn 邮箱：info@aidlab.cn

使用说明书

包装量：

目录编号	包装单位
PC8901	100次
PC8902	500次

Components	PC8901	PC8902
10× Yeast Lysis Buffer	0.2 ml	1 ml
Buffer AD2	2 ml	10 ml
2× Yeast PCR Mix	1 ml	5 ml
ddH ₂ O(PCR grade)	5 ml	25 ml

产品储存：2×Yeast PCR Mix -20℃ 保存，避免反复冻融次数过多，3周内短时间使用可放4℃保存。其余4℃保存，有效期12个月。

制品说明：本制品采用独特的裂解缓冲液快速裂解酵母菌落，释放的酵母质粒DNA无需纯化便可以作为模板，用高度耐抑制物的2×Yeast PCR Mix扩增，扩增产物可直接上样电泳。

适用范围：酵母阳性克隆快速鉴定（酵母菌落直接PCR）。

特点：简单，高通量筛选；一般扩增大小<2.5kb。

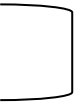
操作步骤：

- 配制即用裂解液：**按照10 μl 10×Yeast Lysis Buffer + 90 μl ddH₂O = 100 μl 比例混合配制成即用裂解液。每个样品需要20 μl即用裂解液，具体量可以根据样品数量按照比例放大配制即可。**即用裂解液可常温存放1个月。**
- 取20 μl即用裂解液于0.2 ml PCR薄壁管中（没有PCR仪器者也可以用0.5 ml离心管）。用移液器吸头挑取长度1~2 mm的酵母菌，吹打悬浮在裂解液中。
- 98℃裂解5 min（建议PCR仪上操作），根据情况裂解时间可以在5 min-10 min内调整。
- 迅速放冰上，加入20 μl Buffer AD2，混匀，即可直接用上清做PCR模板或短时置于4℃或-20℃保存。
- PCR扩增：

建议PCR条件(以20 μl反应体系为例)

Components	Volume	Final Concentration
裂解混合物模板	1~2 μl	as required
2×Yeast PCR Mix	10 μl	1 ×
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM each
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM each
ddH ₂ O to final volume	20 μl	Not applicable

PCR 循环

95°C	5 min		35-40 cycles
94°C	30 sec		
54-60°C	30 sec		
72°C	1-2 kb /min		
72°C	5-10 min		

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 1 cm 左右的短线, 生长 2-3 天后, 挑取 1~2 mm 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. 如果扩增条带较弱, 可以适当增加或者减少模板加入量, 裂解混合物模板一般可以在1 μ l-5 μ l内调节。或者适当梯度稀释模板摸索最佳用量。
4. 如果非特异扩增较多, 可调整退火温度, 或者适当增减模板用量。
5. 各溶液使用完毕后, 应该立刻盖紧盖子, 以免PH改变影响质量。