

酵母样品直扩 PCR 试剂盒

【产品概述】

本试剂盒采用独特的裂解液，所得产物不受细胞释放 PCR 抑制剂影响可以直接用于 PCR 扩增，可用于酵母等微生物基因扩增分析。

【产品组分】

组分	PD-001 100 rxns (20 μ l/rxn)	保存条件
酵母样品裂解液	10 ml	常温
2x 直扩 PCRMix	1 mL	-20 $^{\circ}$ C

【使用方法】

- 裂解：**用枪头挑取适量样品（肉眼可见的明显菌体团块），加入到 70 μ l 裂解液中，95 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
- 离心：**12000 rpm，1 min。
- 基因扩增：**取 0.5-1 μ l 上清液用于 PCR 反应（适用于 20 μ l 反应体系，其他反应体系按比例增加上清液使用量）。

【PCR 反应鉴定】

一、PCR 反应体系

组分	推荐用量	推荐终浓度
2x 直扩 PCR Mix	10 μ l	1X
Forward Primer(10 μ M)	0.5 μ l	0.2-0.4 μ M
Reverse Primer (10 μ M)	0.5 μ l	0.2-0.4 μ M
裂解产物	1 μ l	
ddH ₂ O	补足至 20 μ l	

注：各组分使用前应充分混匀。

二、PCR 反应条件

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98 $^{\circ}$ C	3min	1 cycle
变性	98 $^{\circ}$ C	15sec	35 cycles



退火	56°C	15sec	
延伸	72°C	15sec/Kb	
终延伸	72°C	5min	1 cycle

*退火温度：请参考引物的理论 T_m 值，退火温度可设置低于引物理论值 2-5 °C，或通过梯度 PCR 确定最佳温度。

【注意事项】

1. **模板使用量**：建议按 1-10%总体系量取用模板，20 μ l 体系建议采用 1 μ l 上清液作为模板。
2. **引物终浓度**：0.2-0.4 μ M 可以得到较好结果。反应性能较差时，可在 0.1-0.5 μ M 范围内调整引物浓度。
3. **反应体系**：推荐使用 20 μ l，也可根据使用习惯调整体系体积大小。
4. **体系配制**：配制好 PCR 反应体系，置于涡旋仪上涡旋混匀，瞬时离心将反应液集于管底。

【琼脂糖凝胶电泳】

PCR 产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳（无需加入 Loading Buffer）。

【对照反应】

在 PCR 结果分析时，不管是阳性结果或阴性结果，如果没有对照反应，都不能确定结果是否可靠。为了便于后续实验结果的分析，建议在进行 PCR 时，设置阳性和阴性 PCR 对照反应以便于排除假阳性或假阴性的干扰。

注意：本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

