天净沙系列

CAT#:221173

低温运输，-20℃保存

天净沙

细菌菌落 PCR 试剂盒

Skygen Colony PCR Kit for Bacteria

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

菌落 PCR 是筛选重组子的有效方法，可以使质粒鉴定过程从两天缩短到几小时。本产品是专门用于细菌菌落 PCR 的产品，它具有下列特点：

1. 一管式操作，快捷方便。
2. 既可用细菌菌落，也可用细菌培养液。
3. 条件温和，菌落 PCR 可以扩增长达 3 kb 的 DNA。
4. 既可小规模筛选，也适用于大规模筛查。
5. 高灵敏度，既可用于扩增细菌质粒，也可以用于扩增细菌基因组 DNA。
6. PCR 反应体系中含有惰性电泳染料，反应后可直接上样电泳，不需另加上样液。
7. 处理过的细菌菌落样品低温长期保存后仍能用于 PCR 筛查。
8. 本产品足够 100 次 60 μL 体系的细菌菌落 PCR（酵母菌落 PCR 需要用另一款产品，编号 220325）。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装材料
细菌裂解液	221173a	2 mL	2.0 mL 绿盖管
2×PCR MasterMix（电泳法）	990805	1.5 mL×2	1.5 mL 红盖管
使用手册	221173sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

细菌菌落、模版专一性引物。如果筛选重组质粒，最好一条引物结合位点在质粒上，另外一条在插入片段上，这样可以同时完成重组子筛选和 DNA 插入方向确定两项工作。

使用方法

一、细菌裂解

1. 如果有 N 个样本，则标记 N 个 1.5 mL 的塑料离心管。
2. 在每个管中加入 20 μL 细菌裂解液。
3. 挑入一个新鲜细菌菌落（芝麻大小即可）或 2μL 细菌饱和菌液。
4. 涡旋震荡 3 分钟。
5. 常温 10,000 ×g 离心半分钟后取上清直接作为模板进行 PCR。未用完的样品可以在-20℃放一周。

二、PCR 扩增

6. 在一个 1.5 mL 的塑料离心管中分别加入下列成份并充分混匀，制备

PCR 预混液待用：

成分	加入量
自备超纯水	27 μL × (N+3)
自备 PCR 引物 F，10 μM	1 μL × (N+3)
自备 PCR 引物 R，10 μM	1 μL × (N+3)
2×PCR MasterMix（电泳法）	30 μL × (N+3)
合计	59 μL × (N+3)

7. 将上步得到的 PCR 预混液按 59 μL/管分装到 N 个标记的 PCR 管中。
8. 将第 6 步制备的 N 个样品各取 1 μL 加入到 N 个 PCR 管中。1 号样品加入到 1 号 PCR 管中，以此类推。
9. 将 N 个 PCR 管放入 PCR 仪器中进行扩增，PCR 温度参数根据引物和模板情况由客户自己预先确定。
10. PCR 结束后直接取 10 μL 电泳直接进行琼脂糖电泳分析。本试剂盒提供的 PCR MasterMix 中已经含有电泳示踪剂和促沉剂，故可以直接上样。橙红色电泳染料的泳动速度对应于 50 bp 的 oligo，不会影响大多数 PCR 扩增产物的观察)。
11. 如果有预期大小的片段，则初步判断为阳性。如果没有，则很可能为阴性。
12. 可阳性样品对应的菌落再挑出来进行培养并进行进一步的分析。

关联产品	酵母菌落 PCR 试剂盒