

菌落PCR SOP

1. 仪器设备

名称	厂商	型号
PCR仪	杭州博日科技有限公司	TC-XP-G
超净工作台	苏州安泰空气技术有限公司	A12010423

2. 试剂

名称	供应商	货号
Taq 酶	康为世纪	CW690M

3. 菌落PCR操作方法

- (1) 向做好标记的EP管内加入10ul无菌水。
- (2) 用10ul的无菌枪头挑取平板上的单菌落，打入EP管内，用枪头反复吹打，使菌落充分溶解在无菌水中。
- (3) 将EP管内的菌液取1ul加入对应单号标记的PCR小管中。
- (4) 向EP管内剩余的菌液中加入500ul对应抗性的LB培养基，置于37℃摇床中200rpm震荡培养，用于后续的测序或者质粒提取。
- (5) 将PCR管盖好盖子（一定要检查盖子是否盖紧），放入PCR仪中开始运行。
- (6) 运行完成后，跑DNA胶检测阳性克隆。

菌落PCR体系和程序：

10ul体系：5ul mix Taq	程序：95℃ 5min	} 30 cycles
0.4ul F	95℃ 30s	
0.4ul R	55℃ 30s	
0.5ul 模板	72℃ 2kb/1min	
3.7ul ddH2O	72℃ 5min	

The end



• 一站式蛋白抗体发现服务

重组蛋白 · 抗体 · 噬菌体文库 · 诊断原料

武汉国家生物产业基地 · 光谷抗体发现与筛选公共服务平台