

案例三：酵母菌液直接 PCR 法扩增目的基因

[数据提供：生化细胞所，周老师组，研究方向利用酵母研究染色质与细胞衰老]

目的：

从酵母中提取 DNA 很麻烦，本案例探讨利用 G5 High-Fidelity DNA Polymerase (NovaBio # G302) 直接 PCR 扩增酵母的基因，并通过琼脂糖凝胶电泳确认扩增结果。

案例材料：

酿酒酵母菌液 (*Saccharomyces cerevisiae*)

G5 High-Fidelity DNA Polymerase (NovaBio # G302)

引物：

YEAST- IPP1-F : ATGACCTACACTACCAGACAAATTGG (Tm : 60°C/Primer5 计算 , 产物长度 : 846bp)

YEAST- IPP1-R : TTAAACAGAACCGGAGATGAAGAAC (Tm : 60°C/Primer5 计算)

YEAST- UBC6-F : GCTCAGCAAGCCCAGGATGTG (Tm : 60°C/Primer5 计算 , 产物长度 : 1270bp)

YEAST- UBC6-R : TACCAATATAAACCATTGAAGAACTATCATTAGGT (Tm : 60°C/Primer5 计算)

YEAST- GPH1-F : GCCGCCAGCTAGTACTAGTACTACC (Tm : 60°C/Primer5 计算 , 产物长度 : 2700bp)

YEAST- GPH1-R : ACTGGTTCAACGTTCCAAATGG (Tm : 60°C/Primer5 计算)

体系：

ddH ₂ O	19 μ l
2 × Diamond PCR Buffer(含 dNTPs,Mg ²⁺ 离子)	25 μ l
菌液	1 μ l
上游引物+下游引物	2 μ l + 2 μ l
G5 High-Fidelity DNA Polymerase(1 U/ μ L)	1 μ l

PCR 程序：

95°C 3min

95°C 15sec

57°C 15sec

72°C X sec/kb

} 35 cycle

