

コロニーダイレクト PCR (酵母用)

Sakurai (2002.6.6)

- イエローチップの先にコロニーを掻き取り、0.01% SARKOSYL, 0.02N NaOH 50 μ l へ懸濁
- 5-10 分間ボイル
- sup.をテンプレートにして Z-Taq (Takara)を用いて PCR

10 x Z-Taq buf.	2.5 μ l	
dNTPs (2.5 mM)	2 μ l	
H ₂ O	14.3-14.8 μ l	
primers (100pmol/ μ l)	各 0.25-0.5 μ l	
Z-taq	0.2 μ l	/total 20 μ l
+		
sup.	5 μ l	

95°C	5:00	
95°C	0:05	┐
55°C	0:10	× 40 cyc.
72°C	10-20sec/kbp*	└
72°C	5:00	
4°C	∞	

* 予想される PCR 産物の長さ 1kbp あたり、10-20 sec

- 5-10 μ l で泳動チェック