



β - 半乳糖苷酶显示试剂盒

Cat.NO. ZCS122

Components	ZCS122-1	ZCS122-2
Z buffer	50 mL	100 mL
β -ME	0.5 mL	1 mL
X-gal 储存液	1 mL	2 mL

保存条件: -20℃保存, 有效期一年, 其中 Z buffer 和 β -ME 常温保存。

试剂和材料的准备:

Whatman 5# 滤纸或Grade 410滤纸, 灭菌处理; 镊子, 用来夹取滤纸 ;液氮。

操作方法:

1. 为了得到最好的结果, 用新鲜的克隆 (一般30℃培养2-4天), 菌落直径1-3mm。

2. 配制Z buffer/X-gal 溶液。

Z buffer	50 mL	100 mL
β -ME	0.135 mL	0.27 mL
X-gal 储存液	0.835 mL	1.67mL

3. 预先将滤纸放在盛有2.5-5.0ml的Z buffer/X-gal 溶液的培养皿中。

4. 用镊子夹取一张干净、干燥的滤纸放在长有菌落的平板上, 轻轻用镊子摩擦, 帮助菌落附着在滤纸上。

5. 透过滤纸, 在三个不同的方位上穿孔 (不对称的方位), 此方法用于在培养基上确定滤纸的方向。

6. 当滤纸均匀湿润后, 用镊子小心将滤纸从培养基上取下, 转移到液氮中, 浸没在液氮中10秒。

7. 取出液氮中冷冻过的滤纸, 室温下融化。

8. 小心将滤纸正面朝上, 放在第三步预处理的滤纸上, 避免在两层滤纸中间产生气泡。

9. 将带有两层滤纸的培养皿放于30℃或室温下, 定期检查蓝色菌落的出现情况。一般8小时之内变蓝的可初步定位阳性克隆。

10. 在平板上找到与蓝色菌落相对应的菌落, 挑相应的蓝色菌落到新的培养基平板上。

方法改进:

先在一个培养皿中铺一张普通灭菌滤纸, 再加2.5-5.0ml Z buffer/X-gal溶液将滤纸润湿; 然后将显色滤纸 (Whatman 5# 滤纸或Grade 410滤纸) 剪成长方形, 放在培养皿中, 加少量灭菌水润湿, 用牙签挑取菌落轻轻在滤纸上划线, 直接液氮冷冻10秒, 取出室温融化, 放在预先准备好的滤纸上, 避免在两层滤纸间产生气泡。做好标记后, 放在30℃或室温下, 定期检查蓝色菌落的出现情况。一般8小时之内变蓝的可初步定位阳性克隆。