

表达 β -半乳糖苷酶噬菌体的噬菌斑分析

材料:

LB 或 NZCYM 顶层琼脂或琼脂糖, 含有 X-gal

对于 3ml 顶层琼脂, 加 40ul 2%X-gal。X-gal 要在临用前才加入已冷却的顶层琼脂 (47°C) 中。

大肠杆菌铺平板细菌

只有不是 β -半乳糖苷酶的过量表达株, 可采用任何支持特异性 λ 噬菌体裂解生长的大肠杆菌。细菌染色体上单拷贝 lacZ 基因的存在不影响噬菌斑的检测。

方法:

1. 将 λ 噬菌体原种于 SM+明胶液稀释。
2. 用 10ul 适当稀释的 λ 噬菌体感染 0.1ml 铺平板细菌。感染培养物 37°C 温育 20min。
3. 用 3ml 含 X-gal 的已熔顶层琼脂 (47°C) 至第一个试管, 通过轻拍或轻微涡旋振荡混匀, 随后倒入至琼脂平板上。
4. 用剩下的噬菌体原种的稀释液重复步骤 3。
5. 当顶层琼脂凝固后, 将平板于 37°C 倒置培养 15-18h。
6. 将平板哦成那个 37°C 培养箱中取出, 再于室温下放置 2h, 然后记录噬菌斑的颜色。