

β -galactosidase Filter Assays

β -半乳糖苷酶显色试剂

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

产品内容：

Components	YK3020-50mL
Z buffer	50 mL
β -ME	0.135 mL
X-gal 储存液	0.835 mL
说明书	1 份

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。

Z buffer/X-gal 溶液：100 ml Z buffer

0.27 ml β β -mercaptoethanol (β -ME)

1.67 ml X-gal 储存液（-20°C保存）

操作方法：

1. 为了得到最好的结果，用新鲜的克隆（一般 30°C培养 2-4 天），菌落直径 1-3mm。
2. 配制 Z buffer/X-gal 溶液。
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°C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°C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。