

X-Gal

1. 产品描述

X-Gal 是 β -半乳糖苷酶 (β -galactosidase) 的显色底物, β -半乳糖苷酶可将 X-Gal 水解为无色半乳糖和 4-氯-3-溴靛蓝, 形成强烈的蓝色沉淀。X-Gal 用 IPTG 诱导 lacZ 基因 (编码 β -半乳糖苷酶) 会导致 X-Gal 水解并形成蓝色菌落。X-Gal 和 IPTG (货号 C4175) 常在一起用于蓝白色菌落筛选, 用于在克隆实验中使用包含 lacZ 或 lacZ α -肽基因的载体区分重组子与非重组子。基因克隆中常用的质粒载体 pUC 19 及噬菌体载体 M13 系列均带有 LacZ 基因。

许多质粒载体 (例如, pUC 系列, Bluescript, pGem, 及其它的衍生载体) 携带一个大肠杆菌 DNA 的短区段, 其中含有 β -半乳糖苷酶的 α -肽基因 (lacZ') 的调节序列和前 146 个氨基酸 (N 端) 的编码信息。这种类型的载体适用于表达 β -半乳糖苷酶 C 端部分序列的宿主细胞。尽管 β -半乳糖苷酶的宿主编码片段或质粒编码片段本身都不具有活性, 但它们可以缔合形成具有酶活性的蛋白。 α -互补是指 lacZ 基因的近操纵基因区段的缺失突变体与具有完整的近操纵基因区段的 β -半乳糖苷酶阴性突变体之间实现互补。噬菌体载体的基因间隔区插入 E.coli 的一段调节基因及 lac Z 的 N 端 146 个氨基酸残基编码基因, 其编码产物为 β -半乳糖苷酶的 α 片段。突变型 lac - E.coli 可表达该酶的 ω 片段 (酶的 C-端)。单独存在的 α 及 ω 片段均无 β 半乳糖苷酶活性, 只有宿主细胞与克隆载体同时共表达两片段时, 宿主细胞内才有 β 半乳糖苷酶活性。由 α 互补产生的 lac + 细菌易于识别, 因为它们在显色底物 X-Gal 的存在下会形成蓝色菌落。然而, 将外源 DNA 片段插入质粒的多克隆位点后, 几乎总是导致产生不再能够进行 α -互补的氨基末端片段, 导致携带重组质粒的细菌形成白色菌落。

2. 产品信息

货号	产品名称	规格
A2539	X-Gal	1g

3. 使用方法

(1) 储存液配制

用 DMF 充分溶解 X-Gal 配制成 20mg/ml 的储存液。建议分装成小量保存, 须用铝箔封装以防因受光照而被破坏, 避光贮存于 -20°C。

(2) 蓝白斑筛选

X-Gal、IPTG 加到琼脂培养基溶液

- 1) 将 X-Gal、IPTG 加入琼脂培养基溶液, 混匀, 高压灭菌, 并冷却至 50°C 左右;
- 2) 每毫升培养基内加入 10 μ L 20 mg/mL X-gal 溶液、10 μ L 0.1 M 的 IPTG (使其终浓度达到 1 mM);
- 3) 加入适量抗生素, 混匀;
- 4) 向培养皿倒入适量培养基, 待培养基冷却至室温后, 接种细菌于 37°C 过夜培养。

X-Gal、IPTG 加到琼脂平板表面

- 1) 在超净工作台制备平板（如 LB 琼脂板）；
- 2) 取 40 μ L 100 mM IPTG 和 120 μ L 20 mg/mL X-gal 混合，均匀地涂布于平板上；
注：平板边缘较难充分涂布均匀，容易产生假阳性，建议后续操作中尽可能在平板中间挑取单克隆。
- 3) 37°C 孵育（30 min 或更久）直至所有液体被吸收。接种细菌于 37°C 过夜培养。

注意事项

- 1) 含有 X-Gal 的培养基 4°C 避光保存，须在 1 周内使用；
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。