

现代微生物学实验技术

马玉超

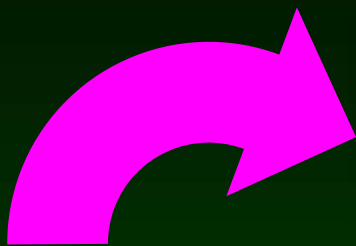
北京林业大学生物科学与技术学院

办公地点：生物楼117；电话：62336016；



实验内容

- ♣ 染色体步移法克隆已知序列的侧翼序列
- ♣ 转座子随机突变及目的表型的筛选
- ♣ 大肠杆菌 β -半乳糖苷酶的诱导表达
- ♣ 利用SDS-PAGE分析融合蛋白的可溶性
- ♣ 绿色糖单胞菌的发酵及胞外酶的提取



张妙直

大肠杆菌 β -半乳糖苷酶的诱导表达

实验目的

01.

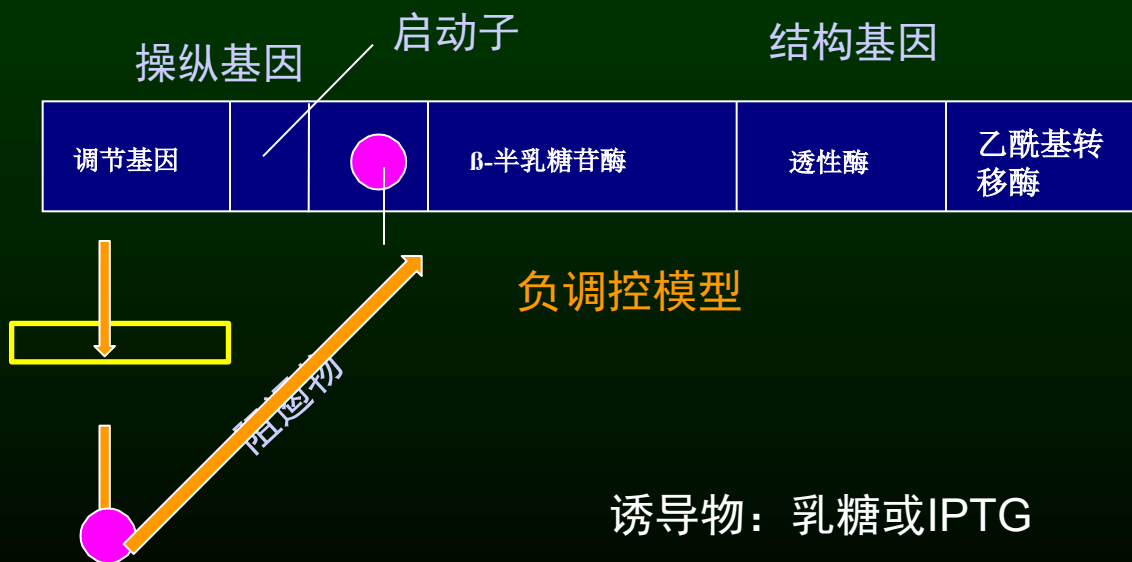
加深对大肠杆菌乳糖操纵子的理解；

02.

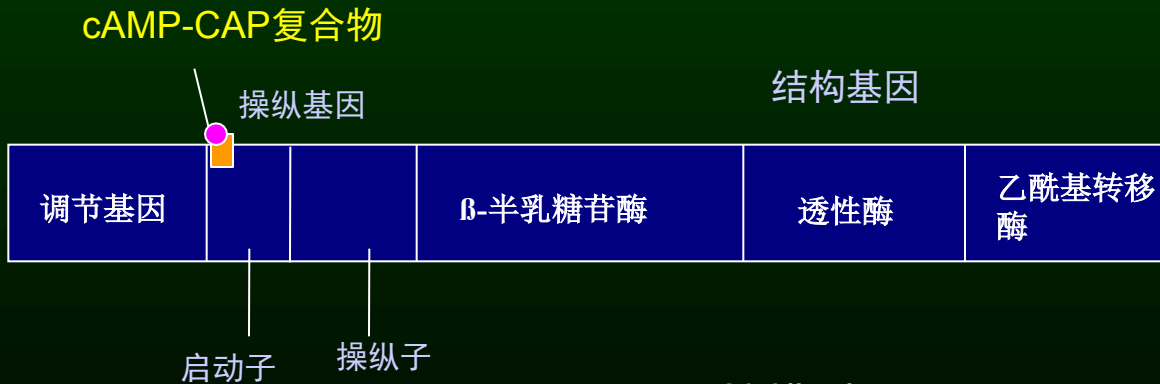
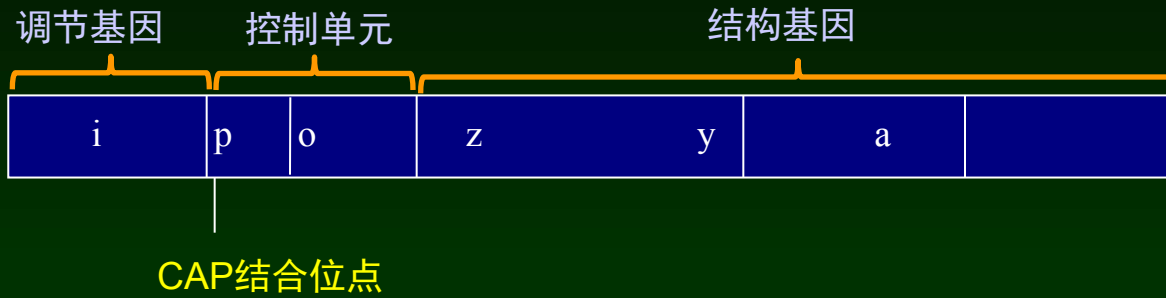
证实 β -半乳糖苷酶是诱导表达的，且该酶的合成受到严格调控。

实验原理

乳糖操纵子



实验原理



正调控模型

实验原理

大肠杆菌 β -半乳糖苷酶是一类诱导酶

- 1 | ♣ 无作用底物(乳糖或半乳糖苷)时，几个分子/细胞；
- 2 | ♣ 中性培养基中加入乳糖(诱导物)， $10^3\sim 10^5$ 倍；
- 3 | ♣ IPTG，不被分解，比乳糖提高 ~ 3 倍；
- 4 | ♣ 葡萄糖效应：葡萄糖和IPTG，被显著阻遏；
- 5 | ♣ 葡萄糖+IPTG+cAMP，不受葡萄糖影响。

实验原理

420nm下吸光度

B-半乳糖苷酶

邻硝基苯酚- β -D-吡喃型

半乳糖苷 ONPG

邻硝基苯酚 ONP + 乳糖

实验材料

- 菌株
大肠杆菌 (*E. coli* K12)

2. 培养基及试剂

(1). 基本培养基(M9培养基)

KH_2PO_4 30g; Na_2HPO_4 60g; NaCl 5g; NH_4Cl 10g。
溶解后加水至1L, 121℃灭菌20min。

灭菌后, 在100 ml M9中加入:

0.1 mol/L MgSO_4 10ml,

0.01 mol/L CaCl_2 10 ml,

加无菌水至1L, 作为基本培养基。

(2). 2×YT培养基

蛋白胨16g, 酵母粉10g, NaCl 5g, 加去离子水至1L。

(3). Z缓冲液

每升含有一下成分:

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	(0.06 mol/L)	21.5g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	(0.04 mol/L)	6.2g
KCl (0.04 mol/L)	(0.01 mol/L)	0.75g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	(0.001 mol/L)	0.246g
巯基乙醇	(0.05 mol/L)	2.7 ml
pH 7.0		

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/035013144021012011>