

小规模测试表达程序

操作规程

1 原理：当有乳糖存在时，lac 操纵子（元）即可被诱导。在这个操纵子（元）体系中，真正的诱导剂并非乳糖本身。乳糖进入细胞，经 β -半乳糖苷酶催化，转变为半乳糖。后者作为一种诱导剂分子结合阻遏蛋白，使蛋白构象变化，导致阻遏蛋白与 O 序列解离、发生转录。异丙基硫代半乳糖苷（IPTG）是一种作用极强的诱导剂，不被细菌代谢而十分稳定。

2 试剂：LB 培养基、1*PBS、IPTG、3*SDS 上样缓冲液、12%分离胶、5%浓缩胶、10%过硫酸铵、TEMED 、1*SDS-PAGE 电泳缓冲液、乙醇、乙酸、考马斯亮蓝（R250）

仪器：灭菌锅、无菌操作台、移液器、恒温摇床、高速离心机、电泳槽、电泳仪、脱色摇床、凝胶成像系统

3 操作程序：

3.1 小试管中加入 2ml LB 培养基（相对应抗生素）。

3.2 上午 9 点将转化好的平板挑 2 个单菌落于装好培养基的小试管中，中午 12 点 30 取 1ml 菌液于灭菌的离心管中，用于保菌，剩下的 1ml 菌液加入 1 微升（1:1000）IPTG 诱导表达。

3.3 1.5-2 小时后 12000 转离心 2 分钟，弃上清。

3.4 加 100 微升的 1*PBS 悬浮，50 微升的 3*SDS 95 摄氏度加热 30 分钟后 SDS-PAGE 电泳。

注意事项:

1. 做好阴性对照（未诱导）与阳性对照（空载 PGEX-4T）
2. 有高表达后比对理论大小是否正确