

IPTG 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷

产品信息:

产品名称: IPTG 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷

规格:

| 目录号 | 产品名称 | 规格 |
|--------|---------------------|------|
| X13084 | IPTG 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 | 1g |
| X11456 | IPTG 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 | 5g |
| X11457 | IPTG 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 | 10g |
| X11458 | IPTG 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 | 100g |

参数说明:

| | |
|-------|---|
| CAS 号 | 367-93-1 |
| 分子式 | C ₉ H ₁₈ O ₅ S |
| 分子量 | 238.30 g/mol |
| 外观 | 白色粉末 |
| 杂质 | ≤0.1% Dioxane |
| 纯度 | ≥98% (BY HPLC) |
| 溶解性 | 溶于水和乙醇 |

使用说明:

1、用途及使用方法

1) 用途: IPTG 是β-半乳糖苷酶的活性诱导物质。基于这个特性, 当 pUC 系列的载体 DNA (或其他带有 lacZ 基因载体 DNA) 以 lacZ 缺失细胞为宿主进行转化时、或用 M13 噬菌体的载体 DNA 进行转染时, 如果在平板培养基中加入 X-gal 和 IPTG, 由于β-半乳糖苷酶的α-互补性, 可以根据是否呈现白色菌落 (或噬菌斑) 而方便地挑选出基因重组体。此外, 它还可以作为具有 lac 或 tac 等启动子的表达载体的表达诱导物使用。

2) 使用方法: 首先把 IPTG 配制成 23.83 mg/ml (100 mM) 的水溶液, 并进行过滤除菌后保存。然后在 100 ml 的琼脂培养基中, 加入 100 μl 的上述溶液、200 μl 的 X-Gal (20 mg/ml 的二甲基甲酰胺 (DMF) 溶液) 和 100 μl 的 Amp (100 mg/ml), 制作成 IPTG、X-Gal、Amp 平板培养基。

当 DNA 片段插入至 pUC 系列载体 (或其他带有 lacZ、Amp 基因载体), 然后转化至 lacZ 缺失细胞中后, 涂布上述的 IPTG、X-Gal、Amp 平板培养基, 可根据长出菌体的蓝白

色，而方便地挑选出基因重组体（白色为具有 DNA 插入片段的基因重组体）。

2、储存液配制

- 1) 称取 2.383 g IPTG；加入 10 mL 去离子水充分溶解 IPTG 粉末，配制 1 M 的储存液；
- 2) 用 5-10 mL 去离子水润湿 0.22 μm 针孔过滤；
- 3) 0.22 μm 滤膜除菌上述 IPTG 溶液。分装成 1 mL， -20°C 冻存，有效期可达 1 年。

3、蓝白斑筛选

1. X-Gal、IPTG 加入琼脂培养基溶液

- 1) 高压灭菌已加琼脂的培养基，并冷却到 50°C 左右。
- 2) 每毫升培养基内加入 10 μL 20 mg/mL X-gal 溶液、10 μL 0.1 M 的 IPTG（使其终浓度达到 1 mM）；
- 3) 加入适量抗生素；
- 4) 混匀后按照平板大小倒入适量培养基，待培养基冷却至室温后，接种细菌于 37°C 过夜培养。

2. X-Gal、IPTG 加到琼脂平板表面

- 1) 于无菌超净工作台制备平板（如 LB 琼脂板）；
- 2) 取 40 μL 100 mM IPTG 和 120 μL 20 mg/mL X-gal 混合，均匀地涂布于准备好的平板上；

注：平板边缘较难充分涂布均匀，容易产生假阳性，因此，为了得到更好结果，建议后续操作中尽可能在平板中间挑取单克隆。

- 3) 37°C 孵育直至所有液体被吸收（30 min 或更长）。接种细菌于 37°C 过夜培养。

4、诱导原理：

首先：E.coli 的乳糖操纵子（元）含 Z、Y 及 A 三个结构基因，分别编码半乳糖苷酶、渗透酶和乙酰基转移酶，此外还有一个操纵序列 O、一个启动序列 P 及一个调节基因 I。I 基因编码一种阻遏蛋白，后者与 O 序列结合，使操纵子（元）受阻遏而处于关闭状态。在启动序列 P 上游还有一个分解（代谢）物基因激活蛋白（CAP）结合位点。由 P 序列、O

序列和 CAP 结合位点共同构成 lac 操纵子的调控区，三个酶的编码基因即由同一调控区调节，实现基因产物的协调表达。

其次：在没有乳糖存在时，lac 操纵子（元）处于阻遏状态。此时，I 序列在 P_I 启动序列操纵下表达的 Lac 阻遏蛋白与 O 序列结合，阻碍 RNA 聚合酶与 P 序列结合，抑制转录启动。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，转变为异乳糖。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）的作用与异乳糖相同，是一种作用极强的诱导剂，不被细菌代谢而十分稳定，因此被实验室广泛应用。

注意事项：

- 1) **运输：**冰袋运输
- 2) **保存：**-20°C保存，有效期 5 年。

本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。