

## $\beta$ -Galactosidase assay

### 1) サンプル調整

10 mM KPB pH=7.0 で菌体をガラスビーズで破碎し、14000 rpm, 4°Cで 10 分遠心。

### 2) 測定法

#### 試薬

1. Z buffer ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  21.5 g (60 mM),  
 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  6.24 g (40 mM),  
KCl 0.75 g (10 mM),  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.246 g (1 mM))
2. ONPG (4 mg/ml in 0.1 M KPB pH7.0)
3. Buffer (10 mM KPB pH7.0)
4. 1 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

#### 手順

(1) Z buffer 800 $\mu$ l, ONPG 160 $\mu$ l, Buffer 50 $\mu$ l  $\sim$  2-mercaptoethanol を Z buffer 10 ml に対して 27  $\mu$ l 加える。

1 Assay 分	10 Assay 分	100 Assay 分
Z-buf 800 $\mu$ l	Z-buf 8ml	Z-buf 80ml
ONPG 160 $\mu$ l	ONPG 1.6ml	ONPG 16ml
Buffer 50 $\mu$ l	Buffer 500 $\mu$ l	Buffer 5ml
2-ME 2.16 $\mu$ l	2-ME 21.6 $\mu$ l	2-ME 216 $\mu$ l

(2) 酵素液を 50 $\mu$ l 加える。

(3) 30°Cで反応させ、黄色になったら 1 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  で反応を止める。420nm の吸光度を測定。 (ブランクを忘れずに!)