

## 噬菌体效价实验

### 实验材料：

菌株：CCTCC AB 2013329 ( $\lambda$  噬菌体溶原株) *Escherichia coli* K12 WK 6  $\lambda$

CCTCC AB 2013330 ( $\lambda$  噬菌体敏感株) *Escherichia coli* C600 CR34

培养基：肉汤培养基；软琼脂：肉汤培养基中加入 0.5% 琼脂 10ml/管

培养条件：NA 培养基或 LB 培养基，37°C

### 实验步骤：

- ✳ 7.5ml 新鲜 *E.coli*  $\lambda$  菌液 (CCTCC AB 2013329) 离心
- ✳ 菌沉淀用 1ml 无菌水悬浮
- ✳ 菌悬液加在无菌平皿中央，开皿盖，在安全柜的紫外灯下照射 15 秒  
(0.15mJ/cm<sup>2</sup>)
- ✳ 加入 NA 培养液 5ml
- ✳ 37°C 暗培养 3 小时
- ✳ 吸取以上菌液-培养液混合物，加 1 - 0.5ml 氯仿震荡后离心 12000rpm 2 分钟
- ✳ 上清十倍稀释至 10<sup>-7</sup>
- ✳ 选择 10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup>、10<sup>-7</sup> 上清稀释液 100ul 与 100ul 受体菌 (CCTCC AB 2013330) 混合
- ✳ 37°C 温浴 20 分钟
- ✳ 混合菌液加入到 NA 软琼脂 (不烫手) 中震荡混匀倒 NA 平板

### 实验结果：

稀释度为 10<sup>-4</sup> 的平板：布满噬斑不可数

稀释度为 10<sup>-5</sup> 的平板：噬斑 346 个

稀释度为 10<sup>-6</sup> 的平板：噬斑 37 个

稀释度为 10<sup>-7</sup> 的平板：噬斑 4 个

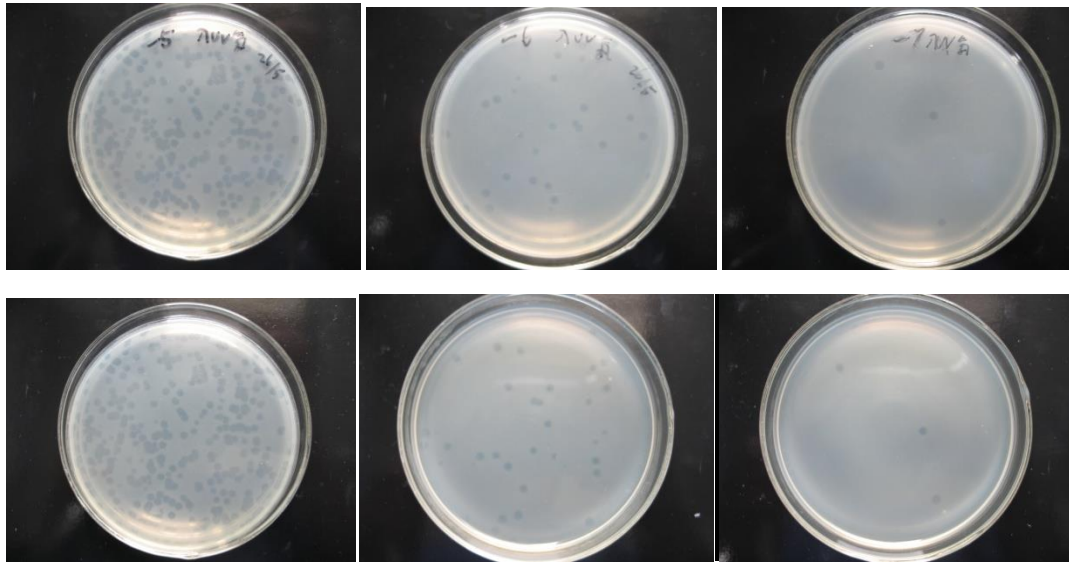


图 1. 上一排为平板背面照片，下一排为平板正面照片。

### 教学建议：

- ✳ 噬菌体液体放置在室温下两周会导致数量下降一个数量级。
- ✳ 宿主菌必须是噬菌体敏感菌株 **CCTCC AB 2013330**，教学用普通大肠菌和噬菌体溶原菌株不能产生噬菌斑。
- ✳ 琼脂的浓度（1.5%-2.0%），过高或过低的琼脂含量均不能达到好的效果。
- ✳ 噬菌体与细胞的比例，测定噬菌体效价应采用低感染复数。
- ✳ 指示菌密度是在平板上获得清晰噬菌斑效果的重要因素之一，其细胞密度不宜过高。一般控制在  $1 \times 10^7$  个细胞/ml 为宜。

### 实验教材：

沈萍，陈向东《微生物学实验》4版. 高等教育出版社.2007, 35-39.

王建波，方呈祥《遗传学实验教程》武汉大学出版社. 2004, 111-114.