X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl β-D-Galactopyranoside)

稳定显色底物，结果辨识度高，兼容蓝白斑筛选与报告基因检测

产品货号：C20204

产品规格：100 mg，1 g，5 g

储运条件：-20 ℃避光保存，冰袋运输

产品简介：

本产品为 X-Gal 是**β-半乳糖苷酶(β-Galactosidase)的显色反应底物**，β-半乳糖苷酶可水解无色的 X-Gal 底物，生成蓝色的产物核心组分为高纯度 X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl β-D-Galactopyranoside)。作为β-半乳糖苷酶研究领域应用最广泛的经典显色底物，其核心作用原理为：具有生物学活性的β-半乳糖苷酶可特异性水解 X-Gal 分子中的β-D-半乳糖苷键，释放出半乳糖 5-溴-4-氯-3-羟基吲哚；游离的吲哚衍生物在有氧环境下发生氧化二聚反应，生成稳定的深蓝色不溶性靛蓝类产物，可通过肉眼或光学显微镜直观判定酶的活性分布与基因表达水平。与传统同类显色试剂相比，本产品**显色产物边界清晰、不易扩散，本底干扰低，结果辨识度高；可兼容原核与真核多类实验体系，仅需配合 IPTG 等常规诱导剂即可使用，操作流程简便，适配通用实验室操作规范。**该试剂盒可广泛应用于大肠杆菌蓝白斑筛选、细胞衰老相关β-半乳糖苷酶活性检测、lacZ 报告基因表达分析等核心实验场景。

β-半乳糖苷酶（由 lacZ 基因编码）是生命科学领域发展最成熟、应用最广泛的报告基因系统之一，是分子克隆筛选、基因表达调控、细胞命运示踪、衰老生物标志物鉴定等研究方向的核心工具，而性能稳定的显色底物是保障该体系实验结果准确可读的关键基础。在大肠杆菌蓝白斑筛选场景中，本产品可通过菌落颜色差异快速区分重组阳性克隆与空载体自连克隆，大幅提升分子克隆构建的筛选效率，有效降低假阳性干扰，是基因克隆实验的金标准显色试剂；在细胞衰老研究中，其可作为衰老相关β-半乳糖苷酶(SA-β-gal)的特异性显色底物，精准定位并可视化衰老细胞，为细胞衰老机制解析、衰老相关疾病研究提供直接的形态学依据；在 lacZ 报告基因体系中，可实现启动子活性、基因转染效率与表达水平的定性及半定量检测，同时可拓展应用于神经元分化示踪、生物材料细胞活力评估、体内酶活成像等前沿研究方向。本产品性能已被大量高水平学术研究验证，结果重复性好、适用场景广，可为分子生物学、细胞生物学、老年医学等多领域研究提供可靠的实验工具支撑，助力科研人员高效获取精准实验数据，推动基因功能解析、衰老机制探索及相关疾病靶点发现与临床转化研究进程。

注：效能等同于 Biotium X-Gal。

应用范围：原核分子克隆筛选、细胞衰老鉴定、lacZ 报告基因检测

产品特点：

- **显色性能优异：**作为β-半乳糖苷酶经典生色底物，水解后生成稳定的深蓝色不溶性沉淀，本底干扰低，菌落/细胞显色边界清晰，结果直观易判读；
- **纯度高、稳定性好：**采用高纯度结晶级原料，批次均一性强；粉末避光储存稳定性优异，配制的储备液冻存可长期保持活性，实验重复性佳；
- **兼容性广、通用性强：**适配原核、真核多类实验体系，配合 IPTG 等常规试剂即可使用，符合通用实验室操作流程；
- **应用场景丰富：**覆盖分子克隆、细胞衰老、报告基因检测、神经示踪、生物材料评估等多研究领域，是生命科学基础研究的通用核心试剂。

产品参数：

- **CAS 号：**7240-90-6；
- **分子量：**408.6
- **分子式：**$C_{14}H_{15}BrClNO_6$
- **溶解性：**Soluble in DMSO or DMF

产品组分：

组分	规格		
A. X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl β-D-Galactopyranoside)	100 mg	1 g	5 g

注意事项：

- 注意无菌操作，避免微生物污染。
- 如果有可能，您尽量在使用的当天配置溶液，并在当天使用完它。但是，如果您需要预先配制储备溶液，我们建议您将溶液等份保存在-20 ℃的密封小瓶中。通常，它们最多可以使用一个月。
- 在使用前和打开样品瓶之前，我们建议您让您的产品在室温下平衡至少1 h。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：

一、 实验前准备

1. 试剂准备：

- 将试剂盒组分A恢复至室温，准备足量PBS缓冲液。
- 储存液配制：X-Gal(20 mg/mL)：称取20 mg X-Gal粉末溶于1 mL DMF，或等比例扩大，-20 ℃避光保存。

二、 操作步骤

方案一：X-Gal、IPTG 加入琼脂培养基溶液（蓝白斑筛选）

1. 培养基灭菌：

（1）高压灭菌含琼脂的培养基，并冷却到 50 °C 左右。

2. 加药

（1）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）。

（2）加入合适抗生素。

3. 倒平板

（1）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 ℃过夜培养。

方案二：X-Gal、IPTG 加到琼脂平板表面（蓝白斑筛选）

1. 倒平板：

（1）于无菌超净工作台制备平板（如LB琼脂板）。

2. 加药：

（1）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。

（2）37 ℃孵育直至所有液体被吸收（30 min或更长）。接种细菌于37 ℃过夜培养。

方案三：细胞水平检测

1. 按合适密度接种于培养皿或其他规格孔板中，放置于 37 ℃、5% CO_2培养箱培养，使次日细胞融合度达到 70%~80%。

2. 将 H_2O_2稀释至工作浓度，按终浓度 50 μmol/L 加入培养体系中，轻柔晃动培养皿混匀。

3. 用胰蛋白酶消化细胞，用 PBS 洗涤 3 次。

4. 固定：室温用 4%多聚甲醛固定 10 min。

5. 固定结束后，用 PBS 洗涤细胞 2 次，去除残留甲醛。

6. 以同样方法制备未经 H_2O_2 处理的细胞作为对照。

7. 37 ℃下 X-Gal 染色。

三、 结果判读

- **定性分析（显微镜）：**

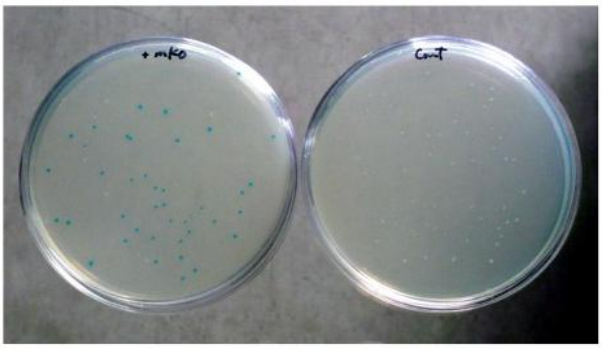


图 1. 在正向激活型蓝白斑体系筛选重组阳性克隆

- 白色/乳白色菌落：菌落呈现培养基本身的乳白色、不发蓝，说明外源DNA片段未成功插入质粒的多克隆位点，无法完成α-互补，无β-半乳糖苷酶活性，X-Gal未被水解显色。
- 深蓝色菌落：mKO基因以正确方向插入载体克隆位点，恢复了下游lacZα基因的完整开放阅读框，表达出功能性α肽；与宿主DH5α的缺陷蛋白完成α-互补，生成有催化活性的β-半乳糖苷酶，水解培养基中的X-Gal生成不溶性深蓝色靛蓝产物，菌落显色。

注：图片引自参考文献《An Alternative Method to Facilitate cDNA Cloning for Expression Studies in Mammalian Cells by Introducing Positive Blue White Selection in Vaccinia Topoisomerase I-Mediated Recombination》（doi: 10.1371/journal.pone.0139349）

注：本体系为正向激活型蓝白斑体系，常规的插入失活型蓝白斑的载体设计逻辑完全相反。

常见疑问与解答：

- 问：X-Gal和IPTG分别起什么作用？

  答：X-Gal：β-半乳糖苷酶的特异性显色底物，被活性酶水解后生成稳定的深蓝色不溶性靛蓝产物，是显色信号的来源。IPTG：lac 操纵子的诱导剂，用于解除 lac 阻遏蛋白的抑制，启动 lacZ 基因转录，确保β-半乳糖苷酶足量表达；无 IPTG 时即使质粒完整也无法正常显色。

- 问：平板法和涂布法选择哪一个？

  答：倒平板法：培养基冷却至 50 ℃左右加入 X-Gal 和 IPTG，混匀后倒板；适合批量制备，显色均匀，适合大规模筛选。

  涂布法：在预制空白平板表面涂布 X-Gal 和 IPTG 储备液，吸收后使用；适合小批量快速实验，无需等待培养基降温。两种方法筛选效果无本质差异，可根据实验规模选择。

注：文件版本：2026 年 10 月 23 日第 2 次修订