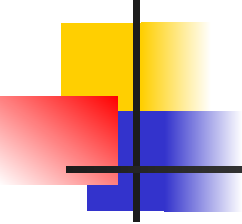
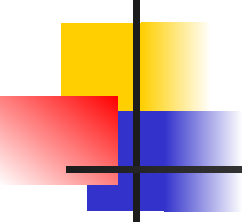


土壤中产碱性蛋白酶细菌的筛选



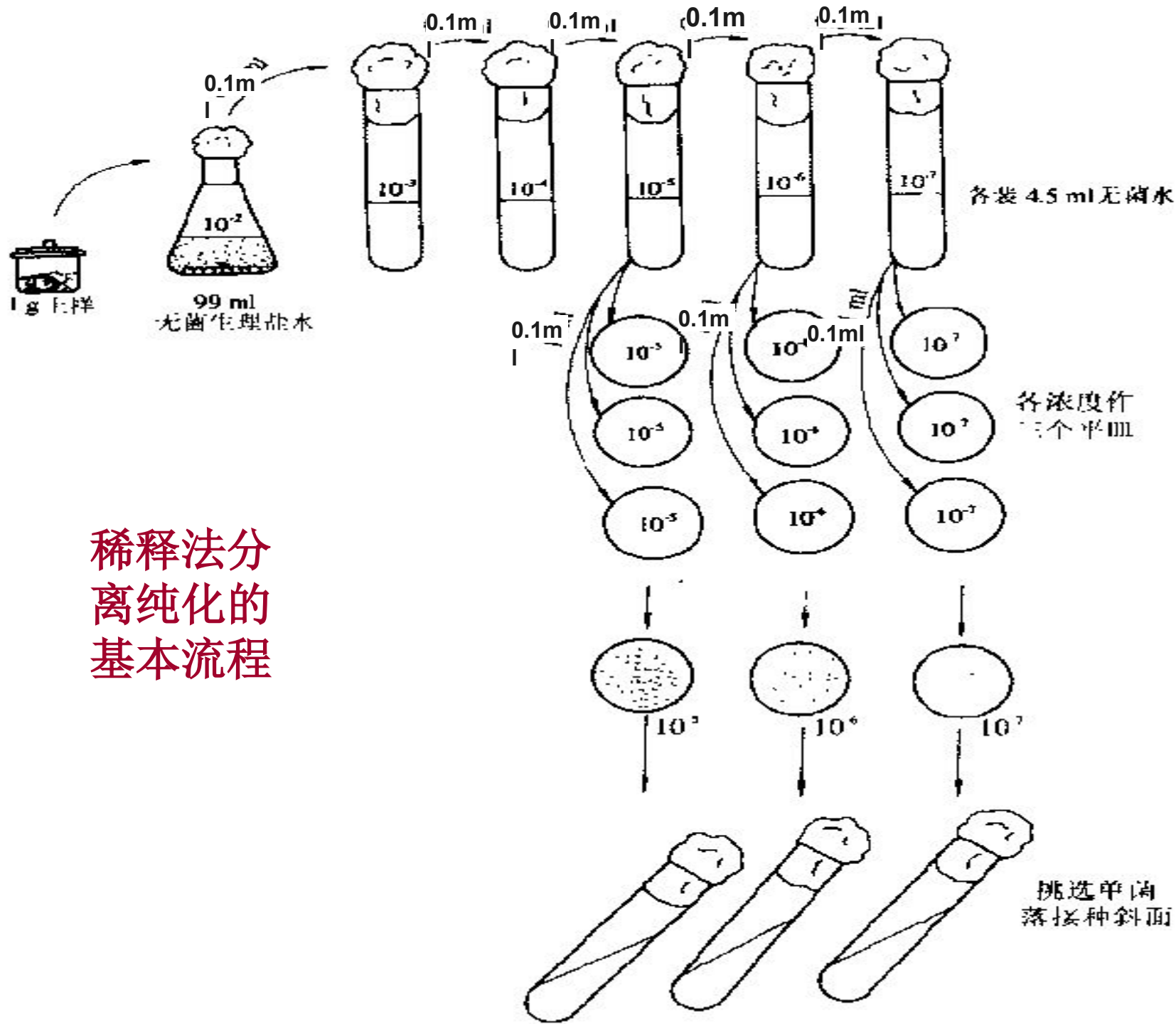
实验目的

- 1、掌握从环境中分离筛选碱性蛋白酶产生菌的原理和方法；
- 2、熟悉选择培养基的原理和制备方法；
- 3、了解筛选特定菌株的实验方案的设计程序。

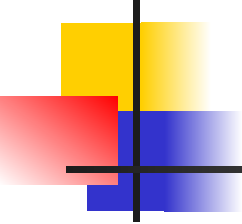


实验原理

- 微生物不能直接利用酪蛋白，必须靠产生的碱性蛋白酶将其分解为小分子后才能吸收利用。产碱性蛋白酶的细菌菌落在以酪蛋白为碳源的固体培养基上会形成水解圈，从而据此判断细菌能否产碱性蛋白酶。



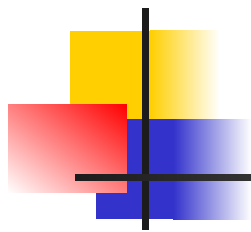
稀释法分离纯化的基本流程



实验器材

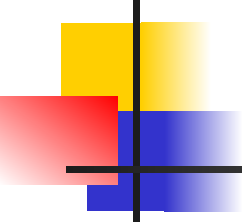
1、培养基：

蛋白胨1 g，牛肉膏 1 g，NaCl 0.5 g，干酪素1 g，琼脂粉2 g，水100ml，pH9.0



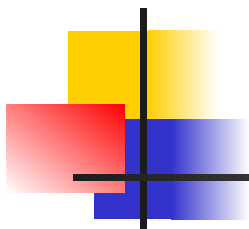
2、土壤样品

3、无菌水、三角瓶（250ml）、培养皿、无菌试管、移液枪、无菌棉签、恒温培养箱

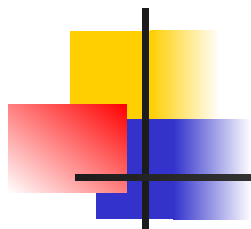


实验方法

1、**土样采集**：在学校的灌木丛下，有腐烂树叶的土壤里采集土样。将**5g**土壤放入**250ml**三角瓶中，加入**50ml**无菌水，用力振荡，使土壤分散，制备悬浊液。



2、涂布平板与培养：然后用移液枪移取1ml浑浊液放入装有9ml无菌水的试管中稀释，依次稀释到 10^{-6} 。取 10^{-2} ， 10^{-3} ， 10^{-4} ， 10^{-5} ， 10^{-6} 稀释倍数的土样液体0.2毫升分别加入平板中涂布。然后放入 37°C 培养箱培养48小时后观察。



3、挑取碱性蛋白酶产生菌：测量平板中菌落的透明圈及菌落的直径，并计算 Φ 透明圈 / Φ 菌落，挑选比值大的菌落转接平板培养。

4、碱性蛋白酶产生菌的生物学特性观察：菌落形态，革兰氏染色。