

大肠杆菌自诱导培养基

产品货号: T10974

产品规格: 1L/1L×5

产品简介:

大肠杆菌自诱导培养基 (E.coli Auto-Induction Medium) 是在LB培养基的基础上进行改进优化配方, 可用于lac调控表达的大肠杆菌菌株培养及蛋白表达。含有多营养物质并额外添加微量元素、氨基酸等, 碳源梯度设计既能满足菌体生长需求, 同时能实现外源蛋白在细菌达到饱和和生长期后的自动诱发。同等产量相比传统LB使用更少培养体积, 免去了密切监控菌液密度的过程, 且无需额外添加IPTG。

本品同样适用于多克隆表达, 高通量筛选。

产品为粉末A加液体B组合形式, 配制方便。

载体和细菌菌株:

大肠杆菌自诱导培养基适用于由功能性的lac操纵子 (包括lac Y和lac Z) 控制的表达系统, 如pET系列。表达菌种可用BL21 (DE3)。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
大肠杆菌自诱导培养基 (1L)	25ml	室温
大肠杆菌自诱导培养基 (5*1L)	5×25ml	室温

使用方法:

2.1 培养基的配制

- 1) 将整包组分A倒入摇瓶中, 加入975ml纯水, 121°C灭菌20min;
- 2) 冷却至37°C后, 在无菌环境中加入抗生素 (依据载体中的抗性基因, 如100ug/ml氨苄青霉素), 最后加入25ml的组分B, 并混合均匀。

2.2 培养基的使用

2.2.1 方案一

- 1) 将构建好的质粒转化入细菌, 如BL21(DE3), 涂布于自备的LB固体培养基 (含抗生素), 37°C培养过夜;
- 2) 培养体积小于100ml时, 直接挑取单克隆菌落至自诱导培养基 (含抗生素) 中, 37°C培养过夜;
- 3) 培养体积大于100ml时, 挑取单克隆菌落接种到自备的液体LB培养基 (含抗生素) 中, 37°C培养6-8h;
- 4) 将所得菌液按百分之一的体积比例加入自诱导培养基 (含抗生素) 中 (例: 自诱导培养基体积是1000ml, 则加入10ml菌液);
- 5) 37°C培养18-24h, 摇床转速大于180rpm/min;
- 6) 收集菌体, 检测目的蛋白表达情况。

2.2.2 方案二

对于在低于30°C条件下表达的蛋白需使用双温度培养条件, 有些蛋白需在18或25°C表达可提高蛋白溶解度和降低细胞毒性。

- 1) 第一天, 接种菌种至2-10ml LB培养基 (含抗生素), 在30°C, 180rpm/min培养过夜, 同时将需使用的自诱导培养基 (含抗生素) 在30°C过夜预热;
- 2) 第二天, 将种子液按1: 40的比例接种至预热的自诱导培养基中;



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 3) 在30°C, 180rpm/min培养6h, 然后将培养瓶转移至18或25°C, 180rpm/min培养。
- 4) 第三-四天, 收集菌体, 检测目的蛋白表达情况。

2.4 菌种裂解

菌种培养结束后, 培养基离心去掉上清收集沉淀菌泥, 对菌体进行称重, 记录重量。进行后续裂解纯化步骤。菌泥可用物理破碎法如超声、高压匀浆等, 或化学方法破碎。化学方法裂解菌泥推荐使用本公司飞刀TM快速裂菌试剂盒 (CutE.coil Lysis Kit) 或铁锤超级裂菌液。

1) 飞刀TM 快速裂菌试剂盒 (CutE.coil Lysis Kit) 使用方法: 按照 1: 9 (m: V) 加入重悬液重悬菌体, 按照菌体重悬液体积的1/9加入飞刀TM快速裂菌试剂盒A液, 搅拌均匀后室温裂解5-10min, 再加入混合液1/1000体积的B液, 搅拌均匀后4-25°C消化核酸5-10min;

2) 铁锤超级裂菌液使用方法: 按照1: 9 (m: V) 加入重悬液重悬菌体。按照菌体重悬液体积的1/9加入铁锤超级裂菌液, 搅拌或振荡混合均匀, 置于4-25°C条件下裂解1-10min。

注意事项:

1. 高压灭菌后, 培养基的颜色可能会加深, 这是正常现象, 不会影响产品性能;
2. 未使用完的培养基可在4°C保存一个月;
3. 由于本方法所得菌液密度大, 故需要大量氧气, 因此培养基的体积不能超过三角瓶的五分之一;
4. 三角瓶底最好是皱褶式的, 这样摇晃中氧气供应更充分;
5. 为了您的安全和健康, 实验过程中请穿实验服并戴一次性手套进行操作;
6. 本产品仅限科研使用。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>