



# 大肠杆菌自诱导培养基 (E.coli Auto-Induction Medium)

## 目录

1. 产品介绍	1
2. 使用方法	1
3. 注意事项	2
4. 订购信息	2

## 1. 产品介绍

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。含有多种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。

### 1.1 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)。

### 1.2 产品内容和保存条件

产品	货号	组分 A	组分 B	存储
大肠杆菌自诱导培养基 (1L)	BR0134-01	1 包	25 ml	15-30℃ (室温)
大肠杆菌自诱导培养基 (5*1L)	BR0134-02	5 包	5*25 ml	

## 2. 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 975 ml 纯水, 121℃ 灭菌 20 min;
- 2) 冷却至 37℃ 后, 在无菌环境中加入抗生素 (依据载体中的抗性基因, 如 100 ug/ml 氨苄青霉素), 最后加入 25 ml 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℃ 培养过夜;
- 2) 培养体积小于 100 ml 时, 直接挑取单克隆菌落至自诱导培养基 (含抗生素) 中, 37℃ 培养过夜;
- 3) 培养体积大于 100 ml 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℃ 培养 6-8 h;
- 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 1000 ml, 则加入 10 ml 菌液);
- 5) 37℃ 培养 18-24 h, 摇床转速大于 180 rpm/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℃ 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℃ 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 2-10 ml LB 培养基 (含抗生素), 在 30℃, 180 rpm/min 培养过夜, 同时将需使用的自诱导培养基 (含抗生素) 在 30℃ 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;
- 3) 在 30℃, 180 rpm/min 培养 6 h, 然后将培养瓶转移至 18 或 25℃, 180 rpm/min 培养 24-36 h;



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™快速裂菌试剂盒 (CutE.coil Lysis Kit) 或铁锤超级裂菌液。

1) 飞刀™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™快速裂菌试剂盒 A 液, 搅拌均匀后室温裂解 5-10 min, 再加入混合液 1/1000 体积的 B 液, 搅拌均匀后 4-25℃消化核酸 5-10 min;

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℃条件下裂解 1-10 min;

## 3 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℃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。

## 4 订购信息

名称	货号	规格
大肠杆菌自诱导培养基 (E.coli Auto-Induction Medium)	BR0134-01	1 L
大肠杆菌自诱导培养基 (E.coli Auto-Induction Medium)	BR0134-02	5*1 L
飞刀™快速裂菌试剂盒	SLR01401	10 ml+0.1 ml
CutE.coil Lysis Kit	SLR01402	100 ml+1 ml
	SLR01404	1 L+10 ml
铁锤超级裂菌液	BR0005-02	100 ml
	BR0005-03	1 L