

ZYM-5052 Broth 自诱导培养基产品说明书

● 产品规格和内容：

包装名称	货号	包装含量	包装数量	保存条件/时间
0.5L ZYM-5052 Broth	CAT#: AIM1031L-01	7.5g (可配 0.5L ZYM-5052 液体培养基)	5 袋	室温干燥/12 个月
0.5L ZYM-5052 Broth	CAT#: AIM1031L-02	7.5g (可配 0.5L ZYM-5052 液体培养基)	10 袋	室温干燥/12 个月
AIM 碳源溶液 (已过滤)	-----	5 袋包装: 50ml/瓶; 10 袋包装: 100ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
5052 缓冲液 (已过滤)	-----	5 袋包装: 50ml/瓶; 10 袋包装: 100ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
微量元素溶液 (已过滤)	-----	5 袋包装: 3ml/瓶; 10 袋包装: 6ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
MgSO ₄ 溶液 (已过滤)	-----	5 袋包装: 3ml/瓶; 10 袋包装: 6ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月

● 产品组分简介：

产品组分	ZYM-5052 Broth 配方 g/L	浓度
N-Z-amine AS	10g	1.0%
Yeast Extract	5g	0.5%
镁离子, 钠离子, 钾离子 微量元素	-----	-----
Glucose (葡萄糖)	-----	-----
Lactose (乳糖)	-----	-----

- PH 值(25°C) 7.0±0.2, 本产品加入 PH7.0 的去离子水后 PH 接近 7.0, 可不调 ph 值直接使用。

● 产品说明

ZYM-5052 Broth: Studier 团队开发, 是基于“碳源自诱导”原理设计的复合自诱导培养基。ZYM-5052 Broth 参考 LB 配方, 在其中补充适量的葡萄糖、乳糖、甘油、镁离子、钠离子、钾离子及微量元素, 主要用于大肠杆菌中由 T7 启动子诱导蛋白表达的试验 (或 IPTG 诱导蛋白表达的试验)。与传统的 LB-IPTG 蛋白诱导方法不同, 自诱导培养基允许 T7 启动子系统的自动调节, 诱导表达, 无需检测培养基中菌体 OD 值, 无需添加 IPTG, 并且蛋白表达量比 IPTG 诱导的蛋白量更高。

自诱导培养基作用机制: 在葡萄糖存在时, 大肠杆菌优先利用葡萄糖, 葡萄糖作为半乳糖操纵子的阻遏因子阻止细菌利用 α -乳糖, 促进高密度生长。一旦培养基中的葡萄糖被耗尽 (通常发生在对数中后期), 乳糖被 β -半乳糖苷酶转换成异乳糖 (葡萄糖-1,6-半乳糖), 而后者作为 IPTG 诱导型启动子的诱导剂, 促进乳糖阻遏物从启动子的 DNA 结合位点上释放, 启动重组蛋白的表达。对于含有 DE3 元件的大肠杆菌, 异乳糖使 T7lac 启动子去阻遏, 诱导 lacUV5 启动子表达 T7 RNA 聚合酶。通过这种方式, 在原核表达菌生长到某一特定点时蛋白表达自发开始, 无需监测细胞密度 (OD600) 和添加 IPTG 这两个步骤。与传统 IPTG 诱导的蛋白表达过程相比, 使用自动诱导培养基极大地方便和简化了试验流程。注意: 大肠杆菌表达菌株必须含有 lac 操纵子 (包括 lacY 和 lacZ), 如 BL21 (DE3)、Rosetta (DE3)、TB1、Mg1655 等; 而 T7 Express lysY 等菌株不含完整的 lac 操纵子, 不能使用自诱导培养基。

上海唯地生物技术有限公司, 专注成就卓越。

电话: 021-34790199

网址: www.weidibio.com

邮箱: sales@weidibio.com

注意：哪种自诱导培养基更适合目标蛋白的表达需要做预试验确认，不同蛋白需要不同的自诱导培养基进行诱导表达，很难在诱导之前预测结果。

● 使用方法

取 ZYM-5052 Broth 粉剂培养基一袋，加双蒸水 480ml 溶解后，定容到 480 ml，121°C-20min 高压灭菌，灭菌后待温度降到 60 度以下，加入 10ml 50×AIM 碳源溶液，10ml 50×5052 缓冲液，0.5ml 1000×微量元素溶液，0.5ml 1000×MgSO₄ 溶液混匀后即可使用或放室温保存。

蛋白自诱导方法：

1. 准备含有目的质粒的原核表达大肠杆菌单菌落（可质粒转化感受态涂板，也可平板划线）。
2. 小摇接菌：将单菌落接种到含有 1-3ml 含相应抗生素的液体 LB/2YT 的透气试管中。
3. 37°C，200 rpm 过夜摇菌约 10-24h，菌体摇浓，一般要求 OD600>2.0。
4. 按 2-5%的比例接菌到 ZYM-5052 Broth 自诱导培养基中，
 - A. 30-37 度诱导：200-300rpm，摇菌 8-24h。
 - B. 18-25 度诱导：200-300rpm，摇菌 12-48h。
 - C. 若所表达蛋白为毒性蛋白或菌体生长过慢，可先在 37 度摇菌，待菌体 OD600=0.8 左右时降低到目标温度开始诱导蛋白表达。
5. 最佳摇菌时间与所表达蛋白有关，为找到最佳诱导时间可在不同诱导时间点取样。

● 注意事项

1. ZYM-5052 Broth 自诱导培养基需先补水，121°C-20min 高压灭菌后使用；若发现有严重吸潮现象，停止使用。
2. 少部分蛋白用自诱导培养基的方法诱导蛋白可能不如常规 IPTG 诱导表达系统，遇到此类蛋白可使用常规的 IPTG 诱导方法。
3. 若配制少于 0.5L，按每 100ml 加 4.34g 培养基的比例加入即可，剩余培养基封口后放干燥处保存。
4. 大肠杆菌表达菌株必须含有 lac 操纵子（包括 lacY 和 lacZ），如 BL21（DE3）、Rosetta（DE3）、TB1、Mg1655 等；而 T7 Express lysY 等菌株不含完整的 lac 操纵子，不能使用自诱导培养基。