ZYP-20052 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	数量	保存条件/时间
0.5L ZYP-20052 Broth	CAT#: AIM1033L-01	7.5g (可配 0.5L ZYP-20052 液体培养基)	5 袋	室温干燥/12 个月
0.5L ZYP-20052 Broth	CAT#: AIM1033L-02	7.5g (可配 0.5L ZYP-20052 液体培养基)	10 袋	室温干燥/12 个月
50×5052 碳源母液（已过滤）	------	5 袋包装：50ml/瓶；10 袋包装：100ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
20×P 缓冲液（已过滤）	------	5 袋包装：125ml/瓶；10 袋包装：250ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
1000×微量元素母液 (已过滤)	------	5 袋包装：3ml/瓶；10 袋包装：6ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
2M 硫酸镁溶液（已过滤）	------	5 袋包装：3ml/瓶；10 袋包装：6ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
50×甘油补充液（已过滤）	------	5 袋包装：50ml/瓶；10 袋包装：100ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
1M 琥珀酸溶液（已过滤）	------	5 袋包装：50ml/瓶；10 袋包装：100ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月

● 产品组分简介：

产品组分	ZYP-20052 Broth 配方 g/L	浓度
N-Z-amine AS	10g	1.0 %
Yeast Extract	5g	0.5 %
琥珀酸	2.36g	20mM
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

ZYP-20052 Broth：Studier 团队开发，基于“碳源自诱导”原理设计的高密度改良复合自诱导培养基。在 ZYP-5052 基础上提升甘油含量到 2%（ZYP-20052 摇瓶培养，最高菌体 OD600 值可突破 40，ZYP-5052 通常 15-20），并添加琥珀酸，搭配高磷酸盐缓冲体系，补充适量的葡萄糖、乳糖、镁离子、钠离子、钾离子及微量元素，专门用于高溶氧条件下大肠杆菌超高密度培养与 T7 启动子蛋白表达试验（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，可支撑菌体达到极高 OD，适合需要超大菌体收获量的蛋白制备场景，对体系溶氧条件要求较高。

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ß-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。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。

● ZYP-20052 Broth 优缺点

1. ZYP-20052 Broth 总磷酸盐浓度 100 mM，低温保存时磷酸盐更容易析出晶体（若晶体析出，可微波炉加热溶解）。
2. 双缓冲体系（高浓度磷酸盐 + 20 mM 琥珀酸），可以有效中和高甘油代谢产生的有机酸，培养全过程 pH 稳定性优于 ZYP-5052、ZYM-5052，支撑菌体达到极高浓度。
3. 高磷酸盐会提高大肠杆菌对卡那霉素的耐受度：同样 Kan 浓度下，容易出现假阳性、抗性筛选失效；使用卡那标记质粒时，必须提高抗生素工作浓度到 100ug/ml。
4. 琥珀酸同时可作为 TCA 循环辅助碳源，辅助维持菌体代谢稳态，高密度下质粒稳定性优于单纯高磷酸盐体系。
5. 不属于常规通用自诱导培养基，仅适合极限高密度培养，常规蛋白表达优先选用 ZYM-5052 或 ZYP-5052。

● 使用方法

取 ZYP-20052 Broth 粉剂培养基一袋，加双蒸水 400ml，溶解后，定容到 445 ml，121℃- 20min 高压灭菌，灭菌后待温度降到 60 度以下，加入 10ml 50×5052 碳源母液，25ml 20×P 缓冲液，0.5ml 1000×微量元素母液，0.5ml 2M 硫酸镁溶液，10ml 50×甘油补充液，10ml 1M 琥珀酸溶液，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℃，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 ZYP-20052 Broth 自诱导培养基中，
   A. 30-37 度诱导：200-300rpm，不补料时，摇菌 8-48h（高密度发酵时根据目标蛋白及补料调整时间）。
   B. 18-25 度诱导：200-300rpm，不补料时，摇菌 12-72h（高密度发酵时根据目标蛋白及补料调整时间）。
   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. ZYP-20052 Broth 自诱导培养基需先补水，121℃-20min 高压灭菌后使用；若发现有严重吸潮现象，停止使用。
2. ZYP-20052 Broth 总磷酸盐浓度 100 mM，ZYM-5052 Broth 总磷酸盐浓度 50 mM。
3. 少部分蛋白用自诱导培养基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。
4. 若配制少于 0.5L，按每 100ml 加 1.5g 培养基的比例加入即可，剩余培养基封口后放干燥处保存。
5. 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。