

## AIM-Ac 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 AIM-Ac Broth	CAT#: AIM1023L-01	23g (可配 0.5L AIM-Ac 液体培养基)	5 袋	室温干燥/12 个月
0.5L AIM-Ac Broth	CAT#: AIM1023L-02	23g (可配 0.5L AIM-Ac 液体培养基)	10 袋	室温干燥/12 个月
AIM 葡萄糖溶液 (已过滤)	CAT#: C1010-3/6	5 袋包装: 3ml/瓶; 10 袋包装: 6ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
AIM 乳糖溶液 (已过滤)	CAT#: C1090-25/50	5 袋包装: 25ml/瓶; 10 袋包装: 50ml/瓶	1 瓶	室温干燥/24 个月
非蛋白分子伴侣 II (已过滤)	-----	5 袋包装: 25ml/瓶; 10 袋包装: 50ml/瓶	1 瓶	4°C/24 个月

### ● 产品组分简介:

产品组分	AIM-Ac Broth 配方 g/L	浓度
Tryptone	10g	1.0%
N-Z-amine AS	6g	0.6%
Yeast Extract	5g	0.5%
HY-YEST 444	5g	0.5%
17 种氨基酸混合物	2g	0.2%
非蛋白分子伴侣 I	0.47g	0.047%
硫酸素, 腺嘌呤等	-----	-----
镁离子, 钠离子, 钾离子	-----	-----
Glucose (葡萄糖)	-----	-----
Lactose (乳糖)	-----	-----

- PH 值(25°C) 6.1±0.2, 本产品加入 PH7.0 的去离子水后 PH 接近 6.1, 可不调 pH 值直接使用。

### ● 产品说明

AIM-Ac Broth: 唯地生物开发的的酸性自诱导培养基 (PH6.1), 适合等电点为中性或等电点大于 7.0 的蛋白表达。在其中补充含有更多小肽的蛋白胨、酵母粉、非蛋白分子伴侣、氨基酸混合物、硫酸素、腺嘌呤、葡萄糖、乳糖、镁离子、钠离子、钾离子, 配制成 AIM-Ac Broth, 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  $\alpha$ -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  $\beta$ -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。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：**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。

## ● AIM-Ac Broth 自诱导培养基的工作原理

1. 蛋白质的等电点 (pI) 是其在溶液中净电荷为零时的 pH 值。当环境 pH 值低于 pI 时，蛋白质带正电；高于 pI 时，带负电。等电点影响蛋白质溶解度和稳定性：当培养基的 pH 值远离目标蛋白的 pI 时，蛋白质分子表面带有大量同种电荷，电荷之间的相互排斥力有助于阻止蛋白质分子聚集沉淀，提高其溶解度和稳定性；反之，如果培养基 pH 值接近目标蛋白的 pI，蛋白质分子易于聚集，形成沉淀（包涵体）。

2. 虽然大肠杆菌能调节其细胞质 pH，但外部培养基的 pH 变化会影响细胞的代谢状态、胁迫响应以及周质等亚细胞区室的微环境。对于分泌到周质或培养基中的蛋白质，外部 pH 直接影响其折叠环境，调整培养基 pH 效果相对更直接、有效；对于胞内可溶性表达的蛋白，外部的 pH 调整通过间接方式影响胞内环境，效果有限但值得尝试；对于极易形成包涵体的蛋白，调整 pH 可作为综合优化策略的一部分。单独使用这种酸性或碱性自诱导培养基可能无法完全解决问题，但结合其他方法（如低温诱导、融合标签、共表达分子伴侣等）可显著提高可溶蛋白比例。

## ● 使用方法

取 AIM-Ac Broth 粉剂培养基一袋，加双蒸水 450ml 溶解后，定容到 495 ml，121℃-20min 高压灭菌，灭菌后待温度降到 60 度以下，加入 0.5ml AIM 葡萄糖溶液，5ml AIM 乳糖溶液，混匀后即可使用或室温保存。

**注意：**非蛋白分子伴侣 II 可加可不加，不同蛋白有不同的最适浓度，实验者可根据目标蛋白不同设置不同的浓度梯度，非蛋白分子伴侣 II 的梯度一般为：0、1%、2%。

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 AIM-Ac Broth 自诱导培养基中，
  - A. 30-37 度诱导：200-300rpm，摇菌 5-24h。
  - B. 15-25 度诱导：200-300rpm，摇菌 24-36h。
  - 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。
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检测蛋白表达量。

## ● 注意事项

1. AIM-Ac 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. 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，按配方比例加入即可，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。