

AIM-Hd 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-Hd Broth	CAT#: AIM1026L-01	36.7g (可配 0.5L AIM-Hd 液体培养基)	5 袋	室温干燥/12 个月
0.5L AIM-Hd Broth	CAT#: AIM1026L-02	36.7g (可配 0.5L AIM-Hd 液体培养基)	10 袋	室温干燥/12 个月
AIM 葡萄糖溶液 (已过滤)	CAT#: C1011-50/100	5 袋包装:50ml/瓶; 10 袋包装:100ml/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

● 产品组分简介：

产品组分	AIM-HdBroth 配方 g/L	浓度
Tryptone	20g	2.0 %
N-Z-amine AS	12g	1.2 %
Yeast Extract	10g	1.0 %
HY-YEST 444	10g	1.0 %
硫酸素, 琥珀酸钠等	-----	-----
镁离子, 钠离子, 钾离子 -----	-----	-----
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

AIM-Hd Broth: 唯地生物开发的高密度自诱导培养基。在其中补充含有更多小肽的蛋白胨、酵母粉、硫酸素、琥珀酸钠、葡萄糖、乳糖、镁离子、钠离子、钾离子, 配制成 AIM-Hd 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 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。与传统 IPTG 诱导的蛋白表达过程相比, 使用自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-Hd Broth 自诱导培养基具有以下优点：

1. 不需添加任何 IPTG 或相关诱导物，节约成本，消除了 IPTG 毒性。
2. 不需要监控菌液密度，省时省力，尤其适合大规模筛选。
3. 细菌生长密度高于 IPTG 诱导表达系统，通常是 IPTG 诱导系统的 1.5-2 倍。
4. 蛋白表达量高于 IPTG 诱导表达系统，一般为 IPTG 诱导系统的 1.5-3 倍。
5. 诱导前本底表达极低或无表达，特别适合毒性基因的表达。
6. 防止质粒丢失：IPTG 诱导系统中毒性蛋白的本底表达会导致质粒的不稳定，增加质粒丢失概率，自诱导系统可防止质粒丢失。
7. 渐进诱导：自诱导培养基的诱导表达是随着细胞消耗葡萄糖并切换到乳糖而逐渐发生的，不是突然一次全部开启（如 IPTG）。这种渐进的诱导方式对细胞的压力较小，可提高大肠杆菌存活率。
8. 本产品即开即用，操作简单，与各种细胞培养容器兼容(如培养瓶、深孔管、发酵罐等)。

● 使用方法

取 AIM-Hd Broth 粉剂培养基一袋，加双蒸水 450ml 溶解后，定容到 485 ml，121℃-20min 高压灭菌，灭菌后待温度降到 60 度以下，加入 10 ml AIM 葡萄糖溶液，5ml AIM 乳糖溶液，混匀后即可使用或室温保存。

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 AIM-Hd 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检测蛋白表达量。

● 注意事项

1. AIM-Hd 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。