

TK 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
TK 诱导培养基	CAT# : DM1050-03	200g (10.5g 配 1L TK 诱导液体培养基)	1 瓶	室温干燥/12 个月
		200mL 碳源母液	1 瓶	室温干燥/12 个月
	YC8026L-02	40mL 吲哚丙烯酸诱导剂	1 瓶	避光、4 度/1 个月；-20 度/6 个月

附言：吲哚丙烯酸为色氨酸启动子诱导剂，用于酪氨酸激酶的诱导表达和目的蛋白的磷酸化，见光易分解，需避光保存，4 度可保存一个月，-20 度不反复冻融，最长可保存六个月，若要长期稳定保存（>6 个月），建议分成小份，-80℃避光冻存，避免反复冻融。

● 产品组分与配方：

产品组分	配方 (1L)	产品组分	配方 (1L)
Na ₂ HPO ₄	6g	1 M MgSO ₄ · 7H ₂ O	1 ml
KH ₂ PO ₄	3g	50% (w/v) glucose	4 ml
NH ₄ Cl	1g	20% casamino acids (不含 Trp)	5 ml
NaCl	0.5g	0.5% thiamine-HCl	0.1 ml
CaCl ₂	3mg	5 mg/ml indoleacrylic acid	2 ml

● PH 值(25℃) 7.0±0.2

● 产品说明

TK 诱导培养基，也叫 M9-casamino acids 培养基(配方相同)，是一款针对大肠杆菌色氨酸（trp）启动子表达系统设计的即用型诱导培养基。培养基通过色氨酸类似物——吲哚丙烯酸（Indoleacrylic acid, IA）解除 trp 启动子的阻遏，配合不含色氨酸的酪蛋白氨基酸（casamino acids）碳氮源体系，实现目标蛋白（TK 系列载体 / 菌株）的高效诱导表达。适用于 trp 启动子驱动的目标蛋白表达、发酵培养及诱导条件优化实验。唯地生物开发的 TK 诱导培养基经试验验证，可适配 TKB1 大肠杆菌的酪氨酸激酶诱导表达试验。

● 作用机理

Trp 启动子受 TrpR 阻遏蛋白负调控：培养基中有色氨酸时，色氨酸结合 TrpR，形成共阻遏物，关闭 Trp 启动子；吲哚丙烯酸（IA）：是 Trp 的结构类似物，可结合 TrpR 阻遏蛋白但不能激活 TrpR 行使阻遏功能，从而解除阻遏，Trp 启动子正常驱动目标蛋白表达；同时 TK 诱导培养基中的酪蛋白氨基酸（不含色氨酸，含丰富的微量元素和维生素），从源头避免 Trp 触发阻遏，保证诱导的稳定高效。

> 附言：trp 启动子属中等强度启动子（表达强度约为 T7 启动子的 1/10 左右），适用于需要温和、可控、可溶性表达的体系，蛋白的可溶性优于 T7 蛋白表达系统，蛋白表达量低于 T7 蛋白表达系统。

● 使用方法

一. TKB1 菌株诱导方法: 取 TK 诱导培养基粉剂 10.5 g, 加双蒸水 988ml 溶解后, 121℃-20min 高压灭菌, 灭菌后温度降到 55 度以下加入碳源母液 10.1 mL、吡哌丙烯酸诱导剂 2 mL。

二. 普通色氨酸启动子诱导蛋白表达方法:

1. 小摇: 挑单克隆接种, 使用含对应抗生素的 LB 或者 TK 诱导培养基(不含色氨酸、诱导剂) 37℃、200rpm 摇菌 12-16h, OD600 >2.0 停止小摇;
2. 大摇: 按 2%的比例接菌到 TK 诱导培养基(不含色氨酸、诱导剂), 37℃、200rpm 摇菌, 培养至 OD600 = 0.4-0.8;
3. 加入吡哌丙烯酸诱导剂至终浓度 10-50 μ g/mL; 37℃、200rpm 继续诱导 2-4 h; 也可以设置 16-37℃ 的温度梯度, 10-50 μ g/mL 的诱导剂梯度, 优化诱导条件。
4. 离心收菌, 检测蛋白。

● 注意事项

1. TK 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. TK 诱导培养基加入 PH7.0 的去离子水后 PH 约 7.0, 可不调 PH 值直接使用。
3. 若配制少于 1L, 按每 100ml 加 1.05g 培养基的比例加入即可, 剩余培养基封口后放干燥处保存。