

枯草芽孢杆菌系统蛋白放大生产

1. 仪器设备

名称	厂商	货号
超净工作台	苏州安泰空气技术有限公司	A12010423
全温大容量振荡培养箱	太仓华美生化仪器厂	AHZ-DA
pH计	梅特勒-托利多国际有限公司	FiveEasy Plus
超声波多通道粉碎机	宁波新芝生物科技股份有限公司	10190376
恒温混匀仪	杭州米欧仪器有限公司	MTH-100
紫外分光光度计	日本岛津	UVmini-1240
冷冻离心机	Heal Force	Neofuge 15R
高压蒸汽灭菌锅	松下健康医疗器械	MLS-3781L-PC
纯水仪	Heal Force	SMARTPLUS-N
电子天平	上海浦春计量仪器有限公司	JY202
磁力搅拌器	SCIOGEX	MS-S

2. 试剂

名称	供应商	货号
TRYPTONE	Oxoid	Lp0042
YEAST EXTRACT	Oxoid	Lp0041
NaCl	国药	10019318
IPTG	aladin	I104812-100g
氨苄青霉素钠	aladin	A105483-100g
卡那霉素	aladin	K103025-100g
Choramphenicol(氯霉素)	广州鼎国生物技术有限公司	AC060-10g

3. 试剂配制

(1) LB培养基 (1L) :

10g蛋白胨, 5g酵母提取物, 10g NaCl, 加纯水定容至1L, 121°C, 15min 灭菌;

(2) 2xYT medium (1L) :

16g蛋白胨, 10g酵母提取物, 5gNaCl, 加纯水定容至1L, 121°C, 15min 灭菌;

(3) Cm- (5mg/ml) : 称取0.25g氯霉素抗生素溶解于50ml无水乙醇中, 过滤除菌 (工作浓度为5µg/ml) ;

(4) 1M IPTG: 称取11.91g IPTG溶解于50ml水中, 过滤除菌。

4. 实验步骤

(1) 挑选已表达并表达量较高的阳性菌株, 活化菌种: 5ml (LB/2XYT) + 相应抗生素+ 50µL 菌液, 37°C培养过夜 (这里以放大200ml为例, 实际可根据放大体积增减) ;

(2) 转接，将过夜活化的5ml菌液接至200ml培养基中，并加入对应抗生素，然后37℃ 220rpm摇床培养约3-4h（转接前应了解表达条件，避免遗漏）；

(3) 打开UV 600nm 测量OD值 0.8~1.0 的范围内，按项目要求加入IPTG后继续37℃ 220rpm摇床诱导表达4h（取最佳表达条件），表达完后收样，离心条件8500rpm，5 min。

The end



• **一站式蛋白抗体发现服务**

重组蛋白 · 抗体 · 噬菌体文库 · 诊断原料

—— 武汉国家生物产业基地 · 光谷抗体发现与筛选公共服务平台 ——