

## 实验室常用培养基的配制方法

Ampicillin  
(100 mg/ml)

- 组份浓度 100 mg/ml Ampicillin
- 配制量 50 ml
- 配制方法
  1. 称量5 g Ampicillin置于50 ml离心管中。
  2. 加入40 ml灭菌水，充分混合溶解后，定容至50 ml。
  3. 用0.22  $\mu$ m过滤膜过滤除菌。
  4. 小份分装（1 ml/份）后，-20 $^{\circ}$ C 保存。

IPTG  
(24 mg/ml)

- 组份浓度 24 mg/ml IPTG
- 配制量 50 ml
- 配制方法
  1. 称量1.2 g IPTG置于50 ml离心管中。
  2. 加入40 ml灭菌水，充分混合溶解后，定容至50 ml。
  3. 用0.22  $\mu$ m过滤膜过滤除菌。
  4. 小份分装（1 ml/份）后，-20 $^{\circ}$ C 保存。

X-Gal  
(20 mg/ml)

- 组份浓度 20 mg/ml X-Gal
- 配制量 50 ml
- 配制方法
  1. 称量1 g X-Gal置于50 ml离心管中。
  2. 加入40 ml DMF（二甲基甲酰胺），充分混合溶解后，定容至50 ml。
  3. 小份分装（1 ml/份）后，-20 $^{\circ}$ C 保存。

## LB培养基

- 组份浓度 1% (W/V) Tryptone, 0.5% (W/V) Yeast Extract, 1% (W/V) NaCl
- 配制量 1 L
- 配制方法
  1. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	10 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	10 g
  2. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
  3. 滴加5 N NaOH（约0.2 ml），调节pH值至7.0。
  4. 加去离子水将培养基定容至1 L。
  5. 高温高压灭菌后，4 $^{\circ}$ C 保存。

## LB/Amp培养基

- 组份浓度

1% (W/V)	Tryptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
1% (W/V)	NaCl
0.1 mg/ml	Ampicillin
- 配制量 1 L
- 配制方法
  1. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	10 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	10 g

2. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 滴加5 N NaOH (约0.2 ml)，调节pH值至7.0。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L。
5. 高温高压灭菌后，冷却至室温。
6. 加入1 ml Ampicillin (100 mg/ml) 后均匀混合。
7. 4 保存。

## TB培养基

### 组份浓度

1.2% (W/V)	Tryptone
2.4% (W/V)	Yeast Extract
0.4% (V/V)	Glycerol
17 mM	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
72 mM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>

### 配制量

1 L

### 配制方法

1. 配制磷酸盐缓冲液 (0.17 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.72 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 100 ml。  
溶解2.31 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和12.54 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>于90 ml的去离子水中，搅拌溶解后，加去离子水定容至 100 ml，高温高压灭菌。
2. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	12 g
Yeast Extract	24 g
Glycerol	4 ml

3. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L后，高温高压灭菌。
5. 待溶液冷却至60 以下时，加入100 ml的上述灭菌磷酸盐缓冲液。
6. 4 保存。

## TB/Amp培养基

### 组份浓度

1.2% (W/V)	Tryptone
2.4% (W/V)	Yeast Extract
0.4% (V/V)	Glycerol
17 mM	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
72 mM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
0.1 mg/ml	Ampicillin

### 配制量

1 L

### 配制方法

1. 配制磷酸盐缓冲液 (0.17 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.72 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 100 ml。  
溶解2.31 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和12.54 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>于90 ml的去离子水中，搅拌溶解后，加去离子水定容至 100 ml，高温高压灭菌。
2. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	12 g
Yeast Extract	24 g
Glycerol	4 ml

3. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L后，高温高压灭菌。
5. 待溶液冷却至60°C以下时，加入100 ml的上述灭菌磷酸盐缓冲液和1 ml的Ampicillin (100 mg/ml)。
6. 均匀混合后4°C保存。

## SOB培养基

### 组份浓度

2% (W/V)	Tryptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
0.05% (W/V)	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgCl <sub>2</sub>

### 配制量

1 L

### 配制方法

1. 配制250 mM KCl溶液。  
在90 ml的去离子水中溶解1.86 g KCl后，定容至100 ml。
2. 配制2 M MgCl<sub>2</sub>溶液。

在90 ml去离子水中溶解19 g MgCl<sub>2</sub>后，定容至100 ml，高温高压灭菌。

3. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	20 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	0.5 g

4. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
5. 量取10 ml 250 mM KCl溶液，加入到烧杯中。
6. 滴加5 N NaOH溶液（约0.2 ml），调节pH值至7.0。
7. 加入去离子水将培养基定容至1 L。
8. 高温高压灭菌后，4℃保存。
9. 使用前加入5 ml灭菌的2 M MgCl<sub>2</sub>溶液。

## SOC培养基

■ 组份浓度

2% (W/V)	Tryptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
0.05% (W/V)	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgCl <sub>2</sub>
20 mM	葡萄糖

■ 配制量 100 ml

■ 配制方法

1. 配制1 M葡萄糖溶液。  
将18 g葡萄糖溶于90 ml去离子水中，充分溶解后定容至100 ml，用0.22 μm滤膜过滤除菌。
2. 向100 ml SOB培养基中加入除菌的1 M葡萄糖溶液2 ml，均匀混合。
3. 4℃保存。

## 2×YT培养基

■ 组份浓度 1.6% (W/V) Tryptone, 1% (W/V) Yeast Extract, 0.5% (W/V) NaCl

■ 配制量 1 L

■ 配制方法

1. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	16 g
Yeast Extract	10 g
NaCl	5 g

2. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 滴加5 N NaOH，调节pH值至7.0。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L。
5. 高温高压灭菌后，4℃保存。

## Φb×broth

■ 组份浓度 2% (W/V) Tryptone, 0.5% (W/V) Yeast Extract, 0.5% (W/V) MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O

■ 配制量 1 L

■ 配制方法

1. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	20 g
Yeast Extract	5 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5 g

2. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 滴加1 N KOH，调节pH值至7.5。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L。
5. 高温高压灭菌后，4℃保存。

## NZCYM培养基

■ 组份浓度

0.5% (W/V)	Yeast Extract
0.1% (W/V)	Casamino Acid
1% (W/V)	NZ胺
0.5% (W/V)	NaCl
0.2% (W/V)	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O

■ 配制量 1 L

■ 配制方法 1. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Yeast Extract	5 g
Casamino Acid	1 g
NZ胺	10 g
NaCl	5 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	2 g

2. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 滴加5 N NaOH (约0.2 ml)，调节pH值至7.0。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L。
5. 高温高压灭菌后，4℃保存。

## NZYM培养基

■ 组份浓度

0.5% (W/V)	Yeast Extract
1% (W/V)	NZ胺
0.5% (W/V)	NaCl
0.2% (W/V)	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O

■ 配制方法 NZYM培养基除不含Casamino Acid (酪蛋白氨基酸) 外，其他成份与NZCYM培养基相同。

## NZM培养基

■ 组份浓度

1% (W/V)	NZ胺
0.5% (W/V)	NaCl
0.2% (W/V)	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O

■ 配制方法 NZM培养基除不含Yeast Extract (酵母提取物) 外，其他成份与NZYM培养基相同。

## 一般固体培养基的配制

■ 配制方法

1. 按照液体培养基配方准备好液体培养基，在高温高压灭菌前，加入下列试剂中的一种。

Agar (琼脂; 铺制平板用)	15 g/L
Agar (琼脂; 配制顶层琼脂用)	7 g/L
Agarose (琼脂糖; 铺制平板用)	15 g/L
Agarose (琼脂糖; 配制顶层琼脂用)	7 g/L

2. 高温高压灭菌后，戴上手套取出培养基，摇动容器使琼脂或琼脂糖充分混匀 (此时培养基温度很高，小心烫伤)。
3. 待培养基冷却至50~60℃时，加入热不稳定物质 (如抗生素等)，摇动容器充分混匀。
4. 铺制平板 (30~35 ml培养基/90 mm培养皿)。

## LB/Amp/X-Gal/IPTG 平板培养基

■ 组份浓度

1% (W/V)	Tryptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
1% (W/V)	NaCl
0.1 mg/ml	Ampicillin
0.024 mg/ml	IPTG
0.04 mg/ml	X-Gal
1.5% (W/V)	Agar

■ 配制量 1 L

■ 配制方法 1. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	10 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	10 g

2. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 滴加5 N NaOH (约0.2 ml)，调节pH值至7.0。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L后，加入15 g Agar。
5. 高温高压灭菌后，冷却至60 左右。
6. 加入1 ml Ampicillin (100 mg/ml)、1 ml IPTG (24 mg/ml)、2 ml X-Gal (20 mg/ml) 后均匀混合。
8. 4°C 保存平板。

## TB/Amp/X-Gal/IPTG 平板培养基

### ■ 组份浓度

1.2% (W/V)	Tryptone
2.4% (W/V)	Yeast Extract
0.4% (V/V)	Glycerol
17 mM	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
72 mM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
0.1 mg/ml	Ampicillin
0.024 mg/ml	IPTG
0.04 mg/ml	X-Gal
1.5% (W/V)	Agar

### ■ 配制量

1 L

### ■ 配制方法

1. 配制磷酸盐缓冲液 (0.17 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.72 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 100 ml。  
溶解2.31 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和12.54 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>于90 ml的去离子水中，搅拌溶解后，加去离子水定容至 100 ml，高温高压灭菌。
2. 称取下列试剂，置于1 L烧杯中。

Tryptone	12 g
Yeast Extract	24 g
Glycerol	4 ml

3. 加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
4. 加去离子水将培养基定容至1 L后，加入15 g Agar。
5. 高温高压灭菌后，冷却至60 左右。
6. 加入100 ml的上述灭菌磷酸盐缓冲液、1 ml Ampicillin (100 mg/ml)、1 ml IPTG (24 mg/ml)、2 ml X-Gal (20 mg/ml) 后均匀混合。
7. 铺制平板 (30~35 ml培养基/90 mm培养皿)。
8. 4°C 保存平板。

Copyright © 2005

版权所有

宝生物工程 (大连) 有限公司