

Medio 2YT de Crecimiento Autoinducible con Elementos Traza

Cat. 2113

Para el crecimiento de cepas bacterianas de expresión inducida por IPTG.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Expresión de proteínas	Escherichia coli

Industria: Biología molecular / Medio de Cultivo Microbiológico

Principios y usos

Los medios de autoinducción fueron formulados y desarrollados por W. Studier, con el objetivo de cultivar cepas de expresión autoinducible por IPTG. El principio de estos medios de autoinducción se basa en distintas fuentes de carbono que se metabolizan diferencialmente para promover un crecimiento celular de alta densidad e inducen automáticamente la expresión de proteínas de los promotores lac.

Los medios de autoinducción contienen glucosa y lactosa como fuente de carbono. Una concentración limitada de glucosa se metaboliza preferentemente durante el crecimiento, lo que evita la absorción de lactosa hasta que la glucosa se agote, generalmente en la fase logarítmica media a tardía. A medida que la glucosa se agota, la lactosa puede ser absorbida y convertida por la enzima β -galactosidasa en el inductor alolactosa. La alolactosa provoca la liberación del represor lac desde sus sitios de unión específicos en el ADN, induciendo posteriormente la expresión de la ARN polimerasa T7 del promotor lacUV5 y desbloqueando los promotores T7lac, permitiendo la expresión de proteínas diana por la ARN polimerasa T7.

Con los medios de autoinducción, un crecimiento celular de alta densidad va seguido por una inducción espontánea de la expresión de proteínas. No es necesario controlar la densidad celular y no hay inducción convencional con IPTG. El crecimiento en paralelo de muchos cultivos no inducidos o autoinducidos es factible porque los cultivos simplemente se inoculan y se dejan crecer hasta la saturación. Esta es una gran ventaja ya que simplifica la inducción manual o automatizada y el análisis de múltiples clones en comparación con la inducción IPTG convencional, que requiere monitorear el crecimiento de cada cultivo y agregar inductor en la etapa de crecimiento adecuada.

Fórmula en g/L

Glucosa	0,5	Sulfato amónico	3,3
Fosfato disódico	7,1	Sulfato magnésico	0,15
Fosfato monopotásico	6,8	Triptona	16
Extracto de levadura	10	Elementos traza	0,015
Alfa lactosa	2		

Preparación

Suspender 45,86 gramos de medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 115 °C durante 20 minutos. Mezclar bien y dispensar como se desee.

Instrucciones de uso

- Consulte las referencias apropiadas para los procedimientos de prueba recomendados.
- Incubar a una temperatura de 35±2 °C durante 18-48 horas.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar	7,0±0,2

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (35±2 °C /18-48 h).

Microrganismos	Especificación
Escherichia coli ATCC 23724	Buen crecimiento
Escherichia coli ATCC 33694	Buen crecimiento
Escherichia coli ATCC 33849	Buen crecimiento
Escherichia coli ATCC 39403	Buen crecimiento
Escherichia coli ATCC 47014	Buen crecimiento

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C
Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

Studier, F. W. 2005. Protein production by auto-induction in high-density shaking cultures. Protein expression and purification 41: 207-234.