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 μm滤器过滤除菌。
4. 小份分装（1 ml/份）后，−20℃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 μm滤器过滤除菌。
4. 小份分装（1 ml/份）后，−20℃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℃避光保存。

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. 称量下列试剂，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℃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_2PO_4
72 mM	K_2HPO_4

■ 配制量　1 L

■ 配制方法

1. 配制磷酸盐缓冲液（0.17 M KH_2PO_4，0.72 M K_2HPO_4）100 ml。
   溶解 2.31 g KH_2PO_4 和 12.54 g K_2HPO_4 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，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_2PO_4
72 mM	K_2HPO_4
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_2PO_4，0.72 M K_2HPO_4）100 ml。
   溶解 2.31 g KH_2PO_4 和 12.54 g K_2HPO_4 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

2. 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 加去离子水将培养基定容至 1 L 后，高温高压灭菌。
4. 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和 1 ml 的 Ampicillin（100 mg/ml）。
5. 均匀混合后 4℃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	$MgCl_2$

■ 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 $MgCl_2$ 溶液。
   在 90 ml 去离子水中溶解 19 g $MgCl_2$ 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 $MgCl_2$ 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	$MgCl_2$
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 滤器过滤除菌。
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）$MgSO_4 \cdot 7H_2O$

■ 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
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	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）	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$

■ 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
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	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）	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$

■ 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）	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$

■ 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℃保存。
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。
7. 铺制平板（30～35 ml 培养基/90 mm 培养皿）。
8. 4℃避光保存。

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%（W/V）	Glycerol
17 mM	KH_2PO_4
72 mM	K_2HPO_4
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_2PO_4，0.72 M K_2HPO_4）100 ml。
   溶解 2.31 g KH_2PO_4 和 12.54 g K_2HPO_4 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℃保存。
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℃避光保存。