AIM-Super Crecimiento sin Elementos Traza

Cat. 2095

Para la expresión del crecimiento de bacterias IPTG-inducibles

Información práctica

Aplicaciones	Categorias
Expresión de proteinas	Uso general

Principios y usos

Los medios de inducción automática (AIM) fueron formulados y desarrollados por primera vez por W. studier para cultivar cepas de expresión inducibles por IPTG.

El principio de AIM se basa en las fuentes de carbono en el medio que se metabolizan de manera diferencial para promover el crecimiento celular de alta densidad e inducir automáticamente la expresión de proteínas de los promotores lac. AIM contiene 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 agota, generalmente en la fase logarítmica media o tardía. A medida que se agota la glucosa, la lactosa puede ser absorbida y la ß-galactosidasa convertirla en el inductor de alolactosa. La allolactosa provoca la liberación de represor lac desde sus sitios de unión específicos en el ADN y, por lo tanto, induce la expresión de la ARN polimerasa T7 del promotor lacUV5 y desbloquea los promotores T7lac, permitiendo la expresión de proteínas diana por la ARN polimerasa T7. Con los medios AIM, un crecimiento celular de alta densidad es seguido por una inducción espontánea de la expresión de proteínas. No hay necesidad de monitorear la densidad celular y no hay inducción convencional con IPTG.

El principio de los medios AIM se basa en las fuentes de carbono en el medio que se metabolizan de manera diferencial para promover el crecimiento celular de alta densidad e inducir automáticamente la expresión de proteínas de los promotores lac. El crecimiento paralelo de muchos cultivos no inducidos o autoinducidos es factible porque los cultivos se inoculan simplemente y se cultivan hasta la saturación. Esto es conveniente ya que simplifica la inducción y el análisis manual o automatizado de múltiples clones en comparación con la inducción de IPTG convencional, que requiere monitorear el crecimiento de cada cultivo y agregar el inductor en la etapa adecuada de crecimiento. Para mayor densidad de saturación que el caldo AIM-LB (2094).

Fórmula en g/L

Glucosa	0,5	Alpha-lactosa	2
Sulfato amónico	3,3	Fosfato disódico	7,1
Sulfato magnésico	0,15	Fosfato monopotásico	6,8
Triptona	35	Extracto de levadura	20

Preparación

Suspender 74,85 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante 1 minuto o hasta su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 115 ºC durante 20 minutos. Mezclar bien y dispensar como se desee.

Instrucciones de uso

- Inocular e incubar a una temperatura de 35±2 ºC y observada después de 18-48 horas.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25ºC)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar	7,0 ± 0,1

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (35±2 ºC / 18-48 h)

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

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 ºC
Temp. Max.:25 ºC

Bibliografía

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

DOMINIQUE DUTSCHER SAS