

# 7

## Solution Preparation

- 实验室常用试剂、缓冲液的配制方法.....194
- 1M Tris-HCl
- 1.5M Tris-HCl
- PBS Buffer
- 10×TE Buffer
- 3M 醋酸钠
- 10M 醋酸铵
- 10% (W/V) SDS
- Tris-HCl平衡苯酚
- 苯酚/氯仿/异戊醇(25:24:1)
- 水饱和酚溶液
- 20% (W/V) Glucose
- 0.5M EDTA
- 2M NaOH/2.5M HCl/5M NaCl
- Solution I/Solution II/Solution III
- 1M DTT/10mM ATP
  
- 核酸电泳相关试剂、缓冲液的配制方法.....197
- 10×MOPS Buffer
- 10×TBE Buffer(pH8.3)
- 50×TAE Buffer(pH8.5)
- 溴乙锭(10mg/ml)
- 6×Loading Buffer(DNA电泳用)
- 10×Loading Buffer(RNA电泳用)
  
- 核酸杂交用相关试剂、缓冲液的配制方法.....198
- 20×SSC/20×SSPE Buffer
- 0.5M 磷酸盐溶液
- 50×Denhardt's Buffer
- 预杂交液/杂交液(DNA杂交用)
- 预杂交液/杂交液(RNA杂交用)
- Salmon DNA(鲑鱼精DNA)
- DNA变性缓冲液
  
- 实验室常用培养基的配制方法.....200
- X-Gal(20mg/ml)
- IPTG
- SOB培养基
- SOC培养基
- 2×YT培养基/b×broth
- NZCYM培养基/NZYM培养基/NZM培养基
- TB培养基 /TB/Amp培养基
- LB培养基 /LB/Amp培养基
- 一般固体培养基的配置
- LB/Amp/X-Gal/IPTG平板培养基
- TB/Amp/X-Gal/IPTG平板培养基
  
- 常用抗生素的配制方法.....203

## 实验室常用试剂、缓冲液的配制方法

**1M Tris-HCl (pH 7.4, 7.6, 8.0)**

组分浓度 1M Tris-HCl

配制量 1L

配制方法 1.称量121.1g Tris置于1L烧杯中。  
2.加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。  
3.按下表量加入浓盐酸调节所需要的pH值。

pH值	浓HCl
7.4	约70ml
7.6	约60ml
8.0	约42ml

4.将溶液定容至1L。

5.高温高压灭菌后，室温保存。

注意：应使溶液冷却至室温后再调定pH值，因为Tris溶液的pH值随温度的变化差异很大，温度每升高1℃，溶液的pH值大约降0.03个单位。

**1.5M Tris-HCl (pH 8.8)**

组分浓度 1.5M Tris-HCl

配制量 1L

配制方法 1.称量181.7g Tris置于1L烧杯中。  
2.加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。  
3.用浓盐酸调节pH值至8.8。  
4.将溶液定容1L。

5.高温高压灭菌后，室温保存。

注意：应使溶液冷却至室温后再调定pH值，因为Tris溶液的pH值随温度的变化差异很大，温度每升高1℃，溶液的pH值大约降低0.03个单位。

**3M 醋酸钠(pH5.2)**

组分浓度 3M 醋酸钠

配制量 100ml

配制方法 1.称量40.8g NaOAc · 3H<sub>2</sub>O置于100~200ml烧杯中，加入约40ml的去离子水搅拌溶解。  
2.加入冰醋酸调节pH值至5.2。  
3.加去离子水将溶液定容100ml。  
4.高温高压灭菌后，室温保存。

**PBS Buffer**组分浓度 137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

配制量 1L

配制方法 1.量取下列试剂，置于1L烧杯中。

NaCl	8g
KCl	0.2g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.42g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.27g

2.向烧杯中加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。

3.滴加浓盐酸将pH值调节至7.4，然后加入去离子水将溶液定容至1L。

4.高温高压灭菌后，室温保存。

注意：上述PBS Buffer中无二价阳离子，如需要可在配方中补充1mM CaCl<sub>2</sub>和0.5mM MgCl<sub>2</sub>。

**10×TE Buffer(pH7.4,7.6,7.8)**

组分浓度 100mM Tris-HCl, 10mM EDTA

配制量 1L

配制方法 1.量取下列溶液，置于1L烧杯中。

1M Tris-HCl Buffer (pH 7.4, 7.6, 8.0)	100ml
500mM EDTA (pH 8.0)	20ml

2.向烧杯中加入约800ml的去离子水，均匀混合

3.将溶液定容至1L后，高温高压灭菌

4.室温保存。

**10M 醋酸铵**

组分浓度 10M 醋酸铵

配制量 100ml

配制方法 1.称量77.1g醋酸铵置于100~200ml烧杯中，加入约30ml的去离子水搅拌溶解。  
2.加去离子水将溶液定容至100ml。  
3.使用0.22μm滤器过滤除菌。  
4.密封瓶口于室温保存。

注意：醋酸铵受热易分解，所以不能高温高压灭菌。

## 实验室常用试剂、缓冲液的配制方法

### 10% (W/V) SDS

组分浓度 10%(W/V)SDS

配制量 100ml

配制方法 1.称量10g高纯度的SDS置于100~200ml烧杯中,加入约80ml的去离子水,68℃加热溶解。  
2.滴加浓盐酸调节pH值至7.2。  
3.将溶液定容至100ml后,室温保存。

### Tris-HCl平衡苯酚

配制方法 苯酚平衡:因为在酸性pH条件下DNA分配于有机相,因此使用苯酚前必须对苯酚进行平衡使其pH值达到7.8以上,苯酚平衡操作方法如下:

(1) 液化苯酚应贮存于-20℃,此时的苯酚呈结晶状态。从冰柜中取出的苯酚首先在室温下放置使其达到室温,然后在68℃水浴中使苯酚充分融解。

(2) 加入羟基喹啉至终浓度0.1%。该化合物是一种还原剂、RNA酶的不完全抑制剂及金属离子的弱螯合剂,同时因其呈黄色,有助于方便识别有机相。

(3) 加入等体积的1M Tris-HCl (pH8.0),使用磁力搅拌器搅拌15分钟,静置使其充分分层后,除去上层水相。

(4) 重复操作步骤3。

(5) 加入等体积的0.1M Tris-HCl (pH8.0),使用磁力搅拌器搅拌15分钟,静置使其充分分层后,除去上层水相。

(6) 重复操作步骤5,稍微残留部分上层水相。

(7) 使pH试纸确认有机相的pH值大于7.8。

(8) 将苯酚置于棕色玻璃瓶中4℃避光保存。

### 0.5 M EDTA(pH8.0)

组分浓度 0.5M EDTA

配制量 1L

配制方法 1.称取186.1g  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,置于1L烧杯中。  
2.加入约800ml的去离子水,充分搅拌。  
3.用NaOH调节pH值至8.0(约20g NaOH)。注意:pH值至8.0小时,EDTA才能完全溶解。  
4.加去离子水将溶液定容至1L。  
5.适量分成小份后,高温高压灭菌。  
6.室温保存。

### 苯酚/氯仿/异戊醇(25:24:1)

配制方法 1.说明:从核酸样品中除去蛋白质时常常使用苯酚/氯仿/异戊醇(25:24:1)。氯仿可使蛋白质变性并有助于液相与有机液相的分离,而异戊醇则有助于消除抽提过程中出现的气泡。

2.配制方法:将Tris-HCl平衡苯酚与等体积的氯仿/异戊醇(24:1)混合均匀后,移入棕色玻璃瓶中4℃保存。

### 水饱和酚溶液

配制方法 1.在大烧杯中加入80ml去离子水,再加入300g苯酚,在水浴中加热搅拌、混合至苯酚完全溶解。

2.将该溶密倒入盛有200ml去离子水的1000ml分液漏斗内,轻轻振荡混合,使其成为乳状液。静置7~10小时,乳状液变成两层透明溶液,下层为被水饱和的酚溶液,放出下层,贮存于棕色瓶中备用。

### 20% (W/V) Glucose

组分浓度 20%(W/V) Glucose

配制量 100ml

配制方法 1.称取20g Glucose置于100~200ml烧杯中,加入约80ml的去离子水后搅拌溶解。  
2.加去离子水将溶液定容至100ml。  
3.高温高压灭菌后,4℃保存。

## 实验室常用试剂、缓冲液的配制方法

**2 M NaOH**

组分浓度	2 M NaOH
配制量	100ml
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.量取80ml去离子水置于100~200ml塑料烧杯中(NaOH溶解过程中大量放热,有可能使玻璃杯炸裂)。</li> <li>2.称取8g NaOH小心地逐渐加入到烧杯中,边加边搅拌。</li> <li>3.待NaOH完全溶解后,用去离子水将溶液定容至100ml。</li> <li>4.将溶液转移至塑料容器中后,室温保存。</li> </ol>

**2.5M HCl**

组分浓度	2.5M HCl
配制量	100ml
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.在78.4ml的去离子水中加入21.6ml的浓盐酸(11.6M),均匀混合。</li> <li>2.室温保存。</li> </ol>

**5M NaCl**

组分浓度	5M NaCl
配制量	1L
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.称取292.2g NaCl置于1L烧杯中,加入800ml的去离子水后搅拌溶解。</li> <li>2.加去离子水将溶液定容1L后,适量分成小份。</li> <li>3.高温高压灭菌后,4℃保存。</li> </ol>

**1M DTT**

组份浓度	1M DTT
配制量	20ml
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.称取3.09g DTT,加入到50ml塑料离心管内。</li> <li>2.加20ml的0.01M NaOAc (pH5.2),溶解后使用0.22<math>\mu</math>m滤器过滤除菌。</li> <li>3.适量分成小份后,-20℃保存。</li> </ol>

**Solution I(质粒提取)**

组分浓度	25mM Tris-HCl (pH8.0)								
	10mM EDTA								
	50mM Glucose								
配制量	1L								
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.量取下列溶液,置于1L烧杯中。</li> </ol> <table> <tr> <td>1M Tris-HCl (pH8.0)</td> <td>25ml</td> </tr> <tr> <td>0.5M EDTA (pH8.0)</td> <td>20ml</td> </tr> <tr> <td>20% Glucose (1.11M)</td> <td>45ml</td> </tr> <tr> <td>dH<sub>2</sub>O</td> <td>910ml</td> </tr> </table> <ol style="list-style-type: none"> <li>2.高温高压灭菌后,4℃保存。</li> <li>3.使用前每50ml的Solution I中加入2ml的RNase A (20mg/ml)。</li> </ol>	1M Tris-HCl (pH8.0)	25ml	0.5M EDTA (pH8.0)	20ml	20% Glucose (1.11M)	45ml	dH <sub>2</sub> O	910ml
1M Tris-HCl (pH8.0)	25ml								
0.5M EDTA (pH8.0)	20ml								
20% Glucose (1.11M)	45ml								
dH <sub>2</sub> O	910ml								

**Solution II(质粒提取)**

组分浓度	200mM NaOH, 1%(W/V)SDS				
配制量	500ml				
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.量取下列溶液,置于500ml烧杯中。</li> </ol> <table> <tr> <td>10% SDS</td> <td>50ml</td> </tr> <tr> <td>2M NaOH</td> <td>50ml</td> </tr> </table> <ol style="list-style-type: none"> <li>2.加灭菌水定容至500ml,充分混匀。</li> <li>3.室温保存。</li> </ol> <p>注意: SDS易产生气泡,不要剧烈搅拌。此溶液保存时间最好不要超过一个月。</p>	10% SDS	50ml	2M NaOH	50ml
10% SDS	50ml				
2M NaOH	50ml				

**Solution III(质粒提取)**

组份浓度	3M KOAc, 5M CH <sub>3</sub> COOH				
配制量	500ml				
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.称量下列试剂,置于500ml烧杯中。</li> </ol> <table> <tr> <td>KOAc</td> <td>147g</td> </tr> <tr> <td>CH<sub>3</sub>COOH</td> <td>57.5ml</td> </tr> </table> <ol style="list-style-type: none"> <li>2.加入300ml去离子水后搅拌溶解。</li> <li>3.加去离子水将溶液定容至500ml。</li> <li>4.高温高压灭菌后,4℃保存。</li> </ol>	KOAc	147g	CH <sub>3</sub> COOH	57.5ml
KOAc	147g				
CH <sub>3</sub> COOH	57.5ml				

**10 mM ATP**

组份浓度	10mM ATP
配制量	20ml
配制方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.称取121mg Na<sub>2</sub>ATP·3H<sub>2</sub>O,加入到50ml塑料离心管内。</li> <li>2.加20ml的25mM Tris-HCl(pH8.0),搅拌溶解。</li> <li>3.适量分成小份后,-20℃保存。</li> </ol>

## 核酸电泳相关试剂、缓冲液的配制方法

**10×MOPS Buffer**

组份浓度 200mM MOPS, 20mM NaOAc, 10mM EDTA

配制量 1L

- 配制方法
- 1.称量41.8g MOPS, 置于1L烧杯中。
  - 2.加约700ml DEPC处理水, 搅拌溶解。
  - 3.使用2M NaOH调节pH值至7.0。
  - 4.再向溶液中加入下列试剂。

1M NaOAc (DEPC处理)	20ml
0.5M EDTA (pH8.0) (DEPC处理)	20ml

- 5.用DEPC处理水将溶液定容至1L。
  - 6.用0.45 $\mu$ m滤膜过滤除去杂质。
  - 7.室温避光保存。
- 注:溶液见光或高温灭菌后会变黄。变黄时也可使用, 但变黑时不要使用。

**50×TAE Buffer(pH8.5)**

组份浓度 2M Tris-醋酸, 100mM EDTA

配制量 1L

- 配制方法
- 1.称量下列试剂, 置于1L烧杯中。

Tris	242g
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	37.2g

- 2.向烧杯中加入与约800ml的去离子水, 充分搅拌溶解。
- 3.加入与57.1ml的醋酸, 充分搅拌。
- 4.加去离子水将溶液定容至1L后, 室温保存。

**10×TBE Buffer(pH8.3)**

组份浓度 890mM Tris-硼酸, 20mM EDTA

配制量 1L

- 配制方法
- 1.称量下列试剂, 置于1L烧杯中。

Tris	108g
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	7.44g
硼酸	55g

- 2.向烧杯中加入与约800mL的去离子水, 充分搅拌溶解。
- 3.加去离子水将溶液定容至1L后, 室温保存。

**6×Loading Buffer(DNA电泳用)**

组份浓度	30mM	EDTA
	36%(V/V)	Glycerol
	0.05%(W/V)	Xylene Cyanol FF
	0.05%(W/V)	Bromophenol Blue

配制量 500ml

- 配制方法
- 1.称量下列试剂, 置于500ml烧杯中。

EDTA	4.4g
Bromophenol Blue	250mg
Xylene Cyanol FF	250mg

- 2.向烧杯中加入约200ml的去离子水后, 加热搅拌充分溶解。
- 3.加入180ml的甘油 (Glycerol) 后, 使用2M NaOH调节pH值至7.0。
- 4.用去离子水定容至500ml后, 室温保存。

**10×Loading Buffer(RNA电泳用)**

组份浓度	10mM	EDTA
	50%(V/V)	Glycerol
	0.25%(W/V)	Xylene Cyanol FF
	0.25%(W/V)	Bromophenol Blue

配制量 10ml

- 配制方法
- 1.称量下列试剂, 置于10ml离心管中。

0.5M EDTA (pH 8.0)	200 $\mu$ l
Bromophenol Blue	25mg
Xylene Cyanol FF	25mg

- 2.向离心管中加入约4ml的DEPC处理水后, 充分搅拌溶解。
- 3.加入5ml的甘油 (Glycerol) 后, 充分混匀。
- 4.用DEPC处理水定容至10ml后, 室温保存。

**溴乙锭(10mg/ml)**

组份浓度 10mg/ml溴乙锭

配制量 100ml

- 配制方法
- 1.称量1g溴乙锭, 加入到100ml容器中。

- 2.加入去离子水100ml, 充分搅至数小时完全溶解溴乙锭。
- 3.将溶液转移至棕色瓶中, 室温避光保存。
- 4.溴乙锭的工作浓度为0.5 $\mu$ g/ml。

注: 溴乙锭是一种致癌物质, 必须小心操作。

## 核酸杂交用相关试剂、缓冲液的配制方法

## 20×SSC

组份浓度 3.0M NaCl, 0.3M 柠檬酸钠

配制量 1L

配制方法 1.称量下列试剂, 置于1L烧杯中。

NaCl	175.3g
柠檬酸钠·2H <sub>2</sub> O	88.2g

2.向烧杯中加入约800ml的去离子水, 充分搅拌溶解。

3.加14M HCl调节pH值至7.0后, 加去离子水将溶液定容至1L。

4.高温高压灭菌后, 室温保存。

## 20×SSPE Buffer

组份浓度 3.0M NaCl, 0.2M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.02M EDTA

配制量 1L

配制方法 1.称量下列试剂, 置于1L烧杯中。

NaCl	175.3g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	27.6g
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	7.4g

2.向烧杯中加入约800ml的去离子水, 充分搅拌溶解。

3.加NaOH调节pH值至7.4(约6.5ml的10M NaOH)

4.加去离子水将溶液定容至1L。

5.高温高压灭菌后, 室温保存。

## 预杂交液/杂交液(DNA杂交用)

组份浓度	6×	SSC (或SSPE)
	20×	Denhardt's
	0.5%(W/V)	SDS
	100μg/ml	Salmon DNA

配制量 100ml

配制方法 1.称量下列试剂, 置于200ml烧杯中。

20×SSC(或SSPE)	30ml
50×Denhardt's	10ml
10% SDS	5ml
10mg/ml Salmon DNA	1ml
dH <sub>2</sub> O	54ml

2.充分混匀后, 使用0.45μm滤器滤去杂质后使用。

## 0.5 M 磷酸盐溶液

组份浓度 0.5 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

配制量 1L

配制方法 1.称量134g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O置于1L烧杯中

2.加入约800ml的去离子水充分搅拌溶解。

3.加入85%的H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(浓磷酸)调节溶液pH值7.2。

4.加去离子水将溶液定容至1L。

5.高温高压灭菌后, 室温保存。

## 50×Denhardt's Buffer

组份浓度	1%(W/V)	Ficoll 400
	1%(W/V)	Polyvinylpyrrolidone
	1%(W/V)	BSA

配制量 500ml

配制方法 1.称量下列试剂, 置于500ml烧杯中。

Ficoll 400	5g
Polyvinylpyrrolidone	5g
BSA	5g

2.加去离子水约400ml, 充分搅拌溶解。

3.加去离子水将溶液定容至500ml。

4.用0.45μm滤器过滤后, 分装成每份25ml。

5.-20℃保存。

## 预杂交液/杂交液(RNA杂交用)

组份浓度	6×	SSC (或SSPE)
	20×	Denhardt's
	0.5%(W/V)	SDS
	100μg/ml	Salmon DNA
	50%(V/V)	Formamide

配制量 100ml

配制方法 1.称量下列试剂, 置于200ml烧杯中。

20×SSC(或SSPE)	30ml
50×Denhardt's	10ml
10% SDS	5ml
10mg/ml Salmon DNA	1ml
Formamide	50ml
dH <sub>2</sub> O	4ml

2.充分混匀后, 使用0.45μm滤器滤去杂质后使用。

## 核酸杂交用相关试剂、缓冲液的配制方法

## Salmon DNA (鲑鱼精DNA)

- 组份浓度 10mg/ml Salmon DNA
- 配制量 约100ml
- 配制方法
- 1.称取鲑鱼精DNA 2g置于500ml烧杯中，加入与约200ml的TE Bufer。
  - 2.用磁力搅拌器室温搅拌2~4小时，溶解后加入4ml的5M NaCl，使其终浓度为0.1M。
  - 3.用苯酚和苯酚/氯仿各抽提一次。
  - 4.回收水相溶液后，使用17号皮下注射针头快速吸打溶液约20次，以切断DNA。
  - 5.加入2倍体积的预冷乙醇进行乙醇沉淀。
  - 6.离心回收DNA后，溶解于100ml的去离子水中，测定溶液的OD260值。
  - 7.计算溶液的DNA浓度后，稀释DNA溶液至10mg/ml。
  - 8.煮沸10分钟后，分装成小份（1ml/份）-20℃保存。
  - 9.使用前在沸水浴中加热5分钟后，迅速冰浴冷却。

## DNA变性缓冲液

- 组份浓度 1.5 M NaCl, 0.5 M NaOH
- 配制量 1L
- 配制方法
- |      |       |
|------|-------|
| NaCl | 87.7g |
| NaOH | 20g   |
- 1.称量下列试剂，置于1L烧杯中。
  - 2.向烧杯中加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。
  - 3.加去离子水将溶液定容至1L后，室温保存。

## 实验室常用培养基的配制方法

## X-Gal (20mg/ml)

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

## IPTG (24mg/ml)

- 组份浓度 24mg/ml IPTG
- 配制量 50ml
- 配制方法
- 1.称量1.2g IPTG置于50ml离心管中。
  - 2.加入40ml灭菌水，充分混合溶解后，定容至50ml。
  - 3.用0.22μm滤器过滤除菌。
  - 4.小份分装（1ml/份）后，-20℃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              |
| 2.5mM      | KCl               |
| 10mM       | MgCl <sub>2</sub> |
- 配制量 1L
- 配制方法
- 1.配制250 mM KCl溶液。  
在90ml的去离子水中溶解1.86g KCl后，定容至100ml。
  - 2.配制2M MgCl<sub>2</sub>溶液。  
在90ml去离子水中溶解19g MgCl<sub>2</sub>后，定容至100ml。高温高压灭菌。
  - 3.称取下列试剂，置于1L烧杯中。
- |               |      |
|---------------|------|
| Tryptone      | 20g  |
| Yeast Extract | 5g   |
| NaCl          | 0.5g |
- 4.加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。
  - 5.量取10ml 250mM KCl溶液，加入到烧杯中。
  - 6.滴加5M NaOH 溶液(约0.2ml)，调节pH值至7.0。
  - 7.加入去离子水将培养基定容至1L。
  - 8.高温高压灭菌后，4℃保存。
  - 9.使用前加入5ml灭菌的2M MgCl<sub>2</sub>溶液。

## 实验室常用培养基的配制方法

## SOC培养基

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

配制量 100ml

配制方法 1. 配制1M葡萄糖溶液。  
将18g葡萄糖溶于90ml去离子水中，充分溶解后定容至100ml，用0.22 $\mu$ m滤器过滤除菌。  
2. 向100ml培养基中加入除菌的1M葡萄糖溶液2ml，均匀混合。  
3. 4 $^{\circ}$ C保存。

2 $\times$ 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 1L

配制方法 1. 称取下列试剂，置于1L烧杯中。

Tryptone	16g
Yeast Extract	10g
NaCl	5g

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

 $\Phi$ b $\times$ 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 1L

配制方法 1. 称取下列试剂，置于1L烧杯中。

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

2. 加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。  
3. 滴加1M KOH，调节pH值至7.5。  
4. 加去离子水将培养基定容至1L。  
5. 高温高压灭菌后，4 $^{\circ}$ C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 1L

配制方法 1. 称取下列试剂，置于1L烧杯中。

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

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

## 实验室常用培养基的配制方法

## TB培养基

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

配制量 1L

配制方法 1. 配制磷酸盐缓冲液 (0.17M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.72M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 100ml。

溶2.31g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和12.54g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>于90ml的去离子水中, 搅拌溶解后, 加去离子水定容100ml, 高温高压灭菌。

2. 称取下列试剂, 置于1L烧杯中。

Tryptone	12g
Yeast Extract	24g
Glycerol	4ml

3. 加入约800ml的去离子水, 充分搅拌溶解。

4. 加去离子水将培养基定容至1L后, 高温高压灭菌。

5. 待溶液冷却至60℃以下时, 加入100ml的上述灭菌磷酸盐缓冲液。

6. 4℃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 1L

配制方法 1. 称取下列试剂, 置于1L烧杯中。

Tryptone	10g
Yeast Extract	5g
NaCl	10g

2. 加入约800ml的去离子水, 充分搅拌溶解。

3. 滴加5M NaOH (约0.2ml) 调节pH值至7.0。

4. 加去离子水将培养基定容至1L。

5. 高温高压灭菌后, 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
	17mM	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
	72mM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>

配制量 1L

配制方法 1. 配制磷酸盐缓冲液 (0.17M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.72M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 100ml。

溶2.31g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和12.54g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>于90ml的去离子水中, 搅拌溶解后, 加去离子水定容至1L后, 高温高压灭菌。

2. 称取下列试剂, 置于1L烧杯中。

Tryptone	12g
Yeast Extract	24g
Glycerol	4ml

3. 加入约800ml的去离子水, 充分搅拌溶解。

4. 加去离子水将培养基定容至1L后, 高温高压灭菌。

5. 待溶液冷却至60℃以下时, 加入100ml的上述灭菌磷酸盐缓冲液和1ml的Ampicillin (100mg/ml)。

6. 均匀混合后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
	0.1mg/ml	Ampicillin

配制量 1L

配制方法 1. 称取下列试剂, 置于1L烧杯中。

Tryptone	10g
Yeast Extract	5g
NaCl	10g

2. 加入约800ml的去离子水, 充分搅拌溶解。

3. 滴加5M NaOH (约0.2ml) 调节pH值至7.0。

4. 加去离子水将培养基定容至1L。

5. 高温高压灭菌后, 冷却至室温。

6. 加入1ml Ampicillin (100mg/ml) 后均匀混合。

7. 4℃保存。

## 实验室常用培养基的配制方法

## 一般固体培养基的配置

配制方法 1.按照液体培养基配方准备好该液体培养基，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)	15g/L
Agar(琼脂:配制顶层琼脂用)	7g/L
Agarose(琼脂糖: 铺制平板用)	15g/L
Agarose(琼脂糖: 配制顶层琼脂用)	7g/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（30~50ml培养基/90mm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
	0.1mg/ml	Ampicillion
	0.024mg/ml	IPTG
	0.04mg/ml	X-Gal
	1.5%(W/V)	Agar

配制量 1L

配制方法 1.称取下列试剂，置于1L烧杯中。

Tryptone	10g
Yeast Extract	5g
NaCl	10g

2.加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。

3.滴加5M NaOH(约0.2ml)，调节pH值至7.0。

4.加去离子水将培养基定容至1L后，加入15g Agar。

5.高温高压灭菌后，冷却至60℃左右。

6.加入1ml Ampicillion (100mg/ml)、1ml IPTG (24mg/ml)、2ml X-Gal (20mg/ml)后均匀混合。

7.铺制平板（30~35ml培养基/90mm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
	17mM	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
	72mM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	0.1mg/ml	Ampicillion
	0.024mg/ml	IPTG
	0.04mg/ml	X-Gal
	1.5%(W/V)	Agar

配制量 1L

配制方法 1.配制磷酸盐缓冲液（0.17M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>，0.72M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>）100ml。

溶解2.31g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和12.54g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>于90ml的去离子水中，搅拌溶解后，加去离子水定容100ml，高温高压灭菌。

2.称取下列试剂，置于1L烧杯中。

Tryptone	12g
Yeast Extract	24g
Glycerol	4ml

3.加入约800ml的去离子水，充分搅拌溶解。

4.加去离子水将培养基定容至1L后，加入15g Agar。

5.高温高压灭菌后，冷却至60℃左右。

6.加入100ml的上述灭菌磷酸盐缓冲液、1ml Ampicillion (100mg/ml) 1ml IPTG (24mg/ml)、2ml X-Gal (20mg/ml)后均匀混合。

7.铺制平板（30~35ml培养基/90mm）培养皿。

8.4℃避光保存。

## 常用抗生素的配制方法

**Ampicillin(100mg/ml)****氨苄青霉素**

组份浓度 100mg/ml Ampicillin

配制量 10ml

- 配制方法
- 1.溶解1g Ampicillin置于10ml离心管中。
  - 2.加入6ml灭菌水中，充分混合溶解后，最后定容至10ml。
  - 3.用0.22 $\mu$ m滤器过滤除菌。
  - 4.小份分装(1ml/份)后，-20 $^{\circ}$ C保存。
  - 5.常以25 $\mu$ g/ml~50 $\mu$ g/ml的终浓度添加于生长培养基。

**Methicillin ( 100mg/ml )****甲氧西林**

组份浓度 100mg/ml Methicillin

配制量 10ml

- 配制方法
- 1.溶解1g Methicillin置于10ml离心管中。
  - 2.加入6ml灭菌水中，充分混合溶解后，最后定容至10ml。
  - 3.用0.22 $\mu$ m滤器过滤除菌。
  - 4.小份分装(1ml/份)后，-20 $^{\circ}$ C保存。
  - 5.常以37.5 $\mu$ g/ml~100 $\mu$ g/ml的终浓度添加于生长培养基。

**Chloramphenicol(25mg/ml)****氯霉素**

组份浓度 25mg/ml Chloramphenicol

配制量 10ml

- 配制方法
- 1.溶解250mg Chloramphenicol置于10ml离心管中。
  - 2.加入6ml无水乙醇中，充分混合溶解后，最后定容至10ml。
  - 3.小份分装(1ml/份)后，-20 $^{\circ}$ C保存。
  - 4.常以12.5 $\mu$ g/ml~25 $\mu$ g/ml的终浓度添加于生长培养基。

**Carbenicillin(50mg/ml)****羧苄青霉素**

组份浓度 50mg/ml Carbenicillin

配制量 10ml

- 配制方法
- 1.溶解0.5g Carbenicillin置于10ml离心管中。
  - 2.加入6ml灭菌水中，充分混合溶解后，最后定容至10ml。
  - 3.用0.22 $\mu$ m滤器过滤除菌。
  - 4.小份分装(1ml/份)后，-20 $^{\circ}$ C保存。
  - 5.常以25 $\mu$ g/ml~50 $\mu$ g/ml的终浓度添加于生长培养基。

**Kanamycin(10mg/ml)****卡那霉素**

组份浓度 10mg/ml Kanamycin

配制量 10ml

- 配制方法
- 1.溶解100mg Kanamycin置于10ml离心管中。
  - 2.加入6ml灭菌水中，充分混合溶解后，最后定容至10ml。
  - 3.用0.22 $\mu$ m滤器过滤除菌。
  - 4.小份分装(1ml/份)后，-20 $^{\circ}$ C保存。
  - 5.常以10 $\mu$ g/ml~50 $\mu$ g/ml的终浓度添加于生长培养基。

**Streptomycin(50mg/ml)****链霉素**

组份浓度 50mg/ml Streptomycin

配制量 10ml

- 配制方法
- 1.溶解0.5g Streptomycin置于10ml离心管中。
  - 2.加入6ml无水乙醇中，充分混合溶解后，最后定容至10ml。
  - 3.小份分装(1ml/份)后，-20 $^{\circ}$ C保存。
  - 4.常以10 $\mu$ g/ml~50 $\mu$ g/ml的终浓度添加于生长培养基。

## 常用抗生素的配制方法

**Nalidixic acid (5mg/ml)****萘啶酮酸**

组份浓度 5mg/ml Nalidixic acid

配制量 10ml

- 配制方法
1. 溶解 50mg Nalidixic acid 置于 10ml 离心管中。
  2. 加入 6ml 灭菌水中，充分混合溶解后，最后定容至 10ml。
  3. 用 0.22 $\mu$ m 滤器过滤除菌。
  4. 小份分装(1ml/份)后，-20 $^{\circ}$ C 保存。
  5. 常以 15 $\mu$ g/ml 的终浓度添加于生长培养基。

**Tetracycline(10mg/ml)****四环素**

组份浓度 10mg/ml Tetracycline

配制量 10ml

- 配制方法
1. 溶解 100mg Tetracycline 置于 10ml 离心管中。
  2. 加入 6ml 灭菌水或无水乙醇中，充分混合溶解后，最后定容至 10ml。
  3. 用灭菌水溶解，需用 0.22 $\mu$ m 滤器过滤除菌；如用无水乙醇溶解，无需过滤处理。
  4. 小份分装(1ml/份)用铝箔包裹液管避光保存，-20 $^{\circ}$ C 保存。
  5. 常以 10 $\mu$ g/ml~50 $\mu$ g/ml 的终浓度添加于生长培养基。