

LB Broth (Lennox)

LC1231

Doporučené médium pro udržování a kultivaci rekombinantních kmenů *E. coli*.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Příprava a obnovení kompetentních buněk	<i>Escherichia coli</i>
Průmysl: Mikrobiologická kultivační média	



Principy a použití

LB bujón (Lennox) je nutričně bohaté médium vyvinuté společností Lennox pro růst a udržování čistých kultur rekombinantních kmenů *E. coli* používaných v molekulárních a mikrobiologických postupech.

Tyto kmeny jsou obvykle odvozeny od *E. coli* K12, které nejsou schopny produkovat vitamin B, proto je toto médium vytvořeno tak, aby podporovalo růst nutričně náročných mikroorganismů. Tento kmen *E. coli* byl dále modifikován specifickou mutací, aby vznikl auxotrofní kmen, který není schopen růstu na nutričně deficitních médiích. Kultivace v LB bujónu umožňuje buňkám s vloženým plazmidem začít exprimovat geny na transformovaném plazmidu, včetně genu rezistence k antibiotikům. Pokud jsou transformované *E. coli* naočkované přímo na selektivní agarové médium (LB Agar obsahující antibiotikum), objeví se méně transformovaných kolonií na 1 ml naočkovaného média. Pěstování transformovaných buněk v LB bujónu zvýší počet transformovaných buněk na 1 ml.

LB bujón (Lennox) obsahuje desetkrát více chloridu sodného než Luriův bujón (Millerova modifikace) (LC1266) a polovinu množství, které se nachází v Luriově bujónu (Millerův LB bujón) (LC1551). To umožňuje zvolit optimální médium s koncentrací soli pro konkrétní kmen.

Trypton poskytuje dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kvasničný extrakt je zdrojem vitaminů, zejména skupiny B. Chlorid sodný dodává elektrolyty nezbytné pro transport a osmotickou rovnováhu. Toto médium se skládá ze stejných složek jako LB Agar (Lennox) bez bakteriologického agaru. V případě potřeby lze přidat také antibiotika.

Složení v g/l

Chlorid sodný	5	Trypton	10
Kvasničný extrakt	5		

Příprava

Suspendujte 20 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Rozlijte do vhodných nádob a sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Návod k použití

- Proveďte experimentální postup podle příslušného použití nebo účelu.
- Inokulujte a inkubujte při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 18-24 hodin.

Kontrola kvality

Rozpustnost bez zbytku	Vzhled jemný prášek	Barva dehydratovaného média béžová	Barva připraveného média čirá jantarová	Konečné pH (25°C) 7,0±0,2
------------------------	---------------------	------------------------------------	---	---------------------------

Mikrobiologický test

Inkubační podmínky: (35 ± 2 °C / 18-24 h).

Mikroorganismy	Specifikace
<i>Escherichia coli</i> ATCC 23724	Dobry růst
<i>Escherichia coli</i> ATCC 33694	Dobry růst
<i>Escherichia coli</i> ATCC 33849	Dobry růst
<i>Escherichia coli</i> ATCC 39403	Dobry růst
<i>Escherichia coli</i> ATCC 47014	Dobry růst

Skladování

Teplota. Min.: 2 °C

Teplota. Max.: 25 °C

Bibliografie

Atlas, R.M., L.C. Parks (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London Lennox. (1955). Virology 1:190.

Sambrook, Fritsch a Maniatis. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual, 2. vyd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.