

## LB-Agars mit Antibiotika

Agars zur selektiven Kultivierung von rekombinanten *Escherichia coli* in der Molekularbiologie. Fertigmischung.

8852, 8853, 8855, 8858, 8860

### Zusammensetzung in g/l (angenähert):

Best.-Nr.	Nährmedium	Tryp-ton*	Hefe-extrakt	NaCl	Antibiotikum	Agar-Agar	pH Wert
8852	LB-Agar (Lennox) / Amp100	10 g/l	5 g/l	5 g/l	Ampicillin 100 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8853	LB-Agar (Lennox) / Kana50	10 g/l	5 g/l	5 g/l	Kanamycin 50 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8855	LB-Agar (Luria/Miller) / Amp100	10 g/l	5 g/l	10 g/l	Ampicillin 100 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8858	LB-Agar (Luria/Miller) / Amp50	10 g/l	5 g/l	10 g/l	Ampicillin 50 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8860	LB-Agar (Luria/Miller) / Kana50	10 g/l	5 g/l	10 g/l	Kanamycin 50 mg/l	15 g/l	7,0±0,2

\* Aus pankreatischem Verdau von Casein.

### HERSTELLUNG

35 g (Lennox) bzw. 40 g (Luria/Miller) des Agarmediums werden in einem Liter destillierten Wassers suspendiert. Gut mischen und unter häufigem Rühren/Schütteln erhitzen. Eine Minute kochen bis das Pulver vollständig gelöst ist.

LB-Agar mit **Ampicillin**: **Nicht überhitzen! Nicht autoklavieren!**

LB-Agar mit **Kanamycin** oder **Chloramphenicol**: **Nicht überhitzen! Nicht autoklavieren!**

Im Wasserbad auf 45-50 °C abkühlen lassen. Gut mischen und in sterile Petrischalen gießen.

Die fertigen Platten sollten mit dem Deckel nach unten bei 8-15 °C aufbewahrt werden und können für etwa 2 Wochen verwendet werden, solange die Sterilität garantiert ist. Die Farbe des Agars ist bernsteinfarben, leicht schillernd.

### EINSATZGEBIET

Die Verwendung von LB-Agar mit Antibiotika wird empfohlen für die selektive Vermehrung von rekombinanten *E. coli*, die Plasmide mit Resistenzen gegen Ampicillin, Kanamycin oder Chloramphenicol als Selektionsmarker tragen. Die transformierten *E. coli* werden **direkt** auf den zubereiteten Selektivagar aufgetragen. Die weitere Zugabe von Antibiotika während der Herstellung der Agarplatten ist nicht notwendig. IPTG und X-β-Gal können zur Induktion der Proteinexpression zugegeben werden (Blau/Weiß-Selektion).

LB-Agars nach der von Lennox entwickelten Modifizierung (geringerer Salzgehalt) werden für die Vermehrung von *E. coli* Stämmen empfohlen, die weniger salzreiches Medium bevorzugen.

LB (Lysogeny Broth) Medien bilden eine Gruppe von reichhaltigen Nährlösungen zur Anzucht und Kultivierung von *E. coli* Bakterien. Das erste LB-Medium wurde ursprünglich von Guiseppe Bertani im Jahr 1951 entwickelt, um das Wachstum von *Shigella* und die Plaquebildung von P1, P2 und P3 Phagen<sup>1</sup> zu optimieren. Seitdem werden die Medien äußerst häufig zur Vermehrung von *E. coli* im Allgemeinen und von rekombinanten *E. coli* im Besonderen verwendet, sowie zur Plasmidpropagation und die Proteinexpression *in vitro*. In davon abgeleiteten Formulierungen wurde z.B. das Natriumchlorid reduziert<sup>2,3</sup>, unter anderem um optimale Bedingungen für salzsensitive Bakterienstämme zu schaffen.

Trypton stellt Stickstoff, Vitamine, Mineralien und essentielle Aminosäuren für das Bakterienwachstum bereit. Hefeextrakt ist eine reichhaltige Quelle für Vitamine, vor allem der B-Gruppe. Natriumchlorid liefert wichtige Elektrolyte. In LB-Agar ist hochreiner Agar-Agar als Geliermittel zugegeben.

## MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium / Agar bei einer Temperatur von 35 ±2 °C für 18-24 Stunden.

### Generelle QC-Assays

Mikroorganismen	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibiert
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	inhibiert

### Spezifische QC-Assays

Best.-Nr.	Agarmedium	Mikroorganismen	Wachstum
8852	LB-Agar (Lennox) / Amp100	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pUC19	Gut
8853	LB-Agar (Lennox) / Kana50	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pHSG 298	Gut
8855	LB- Agar (Luria/Miller) / Amp100	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pUC19	Gut
8858	LB- Agar (Luria/Miller) / Amp50	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pUC19	Gut
8860	LB-Agar (Luria/Miller) / Kana50	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pHSG 298	Gut

Nach:

- 1.) Bertani, G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 62:293-300 (1951)
- 2.) Lennox, E. S. Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. *Virology* 1:190-206 (1955)
- 3.) Luria, S. E.; Adams, J. N.; Ting, R. C. Transduction of lactose-utilizing ability among strain of *E. coli* and *S. dysenteriae* and the properties of the transducing phage particles. *Virology* 12:348-390 (1960)
- 4.) Miller, J. H. Experiments in molecular genetics. *Cold Spring Harbor Laboratory*, Cold Spring Harbor, N.Y. (1972)
- 5.) Atlas, R.M., Parks L.C. Handbook of Microbiological Media. *CRC Press*, Inc. London (1993)
- 6.) Sambrook and Russell. Molecular cloning: a laboratory manual, 3rd ed. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001)

<b>LB-Agar (Lennox) /</b>	<b>500 g</b>	<b>8852.1</b>
<b>Amp100</b>	<b>1 kg</b>	<b>8852.2</b>
	<b>2,5 kg</b>	<b>8852.3</b>

<b>LB-Agar (Lennox) /</b>	<b>500 g</b>	<b>8853.1</b>
<b>Kana50</b>	<b>1 kg</b>	<b>8853.2</b>

<b>LB-Agar (Luria/Miller) /</b>	<b>500 g</b>	<b>8855.1</b>
<b>Amp100</b>	<b>1 kg</b>	<b>8855.2</b>
	<b>2,5 kg</b>	<b>8855.3</b>

<b>LB-Agar (Luria/Miller) /</b>	<b>500 g</b>	<b>8858.1</b>
<b>Amp50</b>	<b>1 kg</b>	<b>8858.2</b>
	<b>2,5 kg</b>	<b>8858.3</b>

<b>LB-Agar (Luria/Miller) /</b>	<b>500 g</b>	<b>8860.1</b>
<b>Kana50</b>	<b>1 kg</b>	<b>8860.2</b>

## Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe  
 Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.de • www.carlroth.de

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428. Geschäftsführer: André Houdelet

jh 09/2022



## LB Agars with Antibiotics

Agars for selective growth of recombinant *Escherichia coli* in genetic engineering. Premixed agar formulation including antibiotics.

8852, 8853, 8855, 8858, 8860

### Approximate formulation in g/l:

Art. No.	Nutrient Medium	Tryp- tone*	Yeast extract	NaCl	Antibiotic	Agar- Agar	pH value
8852	LB-Agar (Lennox) / Amp100	10 g/l	5 g/l	5 g/l	Ampicillin 100 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8853	LB-Agar (Lennox) / Kana50	10 g/l	5 g/l	5 g/l	Kanamycin 50 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8855	LB- Agar (Luria/Miller) / Amp100	10 g/l	5 g/l	10 g/l	Ampicillin 100 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8858	LB- Agar (Luria/Miller) / Amp50	10 g/l	5 g/l	10 g/l	Ampicillin 50 mg/l	15 g/l	7,0±0,2
8860	LB-Agar (Luria/Miller) / Kana50	10 g/l	5 g/l	10 g/l	Kanamycin 50 mg/l	15 g/l	7,0±0,2

\* Pancreatically digested peptone from casein.

### PREPARATION

Suspend 35 g (Lennox) or 40 g (Luria/Miller), respectively, in one litre of distilled or deionized water. Mix well and heat with frequent agitation. Boil for one minute until fully dissolved.

LB agars with **ampicillin**: **Do not overheat. Do not autoclave.**

LB agars with **kanamycin** or **chloroamphenicol**: **Do not overheat. Do not autoclave.**

Cool to 45-50 °C in a water bath. Mix well and dispense into sterile petri dishes.

The hardened dishes should be stored bottom up at 8-15 °C and may be used for approx. 2 weeks, as long as sterility is guaranteed. The colour of the agar is amber, slightly opalescent.

### USES

Use of LB Agars with antibiotics is recommended for the selective propagation of *E. coli* recombinant with plasmids that carry a selection marker in terms of resistance against ampicillin, kanamycin or chloroamphenicol. The transformed *E. coli* are plated **directly** onto the prepared selective agar. Further addition of antibiotics during preparation of the agar dish is not necessary. IPTG and X-β-Gal may be added for induction of protein expression (blue/white selection).

LB agars according to the Lennox modification (less salt) are recommended for growth of *E. coli* strains that require less salt concentration.

LB (Lysogeny **B**roth) media is a group of nutritionally rich growth solutions for the propagation and maintenance of *E. coli* bacteria. Originally, the first LB medium has been developed by Guiseppe Bertani in 1951 in order to optimise growth of *Shigella* and plaque formation of P1, P2 and P3 phages<sup>1</sup>. Since then, the media were, and still are, widely used for growth of *E. coli* in general and recombinant *E. coli* in particular, as well as for propagation of plasmids and expression proteins *in vitro*. During the following years, some modifications were implemented including the reduction of sodium chloride<sup>2,3</sup>, amongst other things in order to provide optimised conditions for salt sensitive bacterial strains.

Tryptone provides nitrogen, vitamins, minerals and amino acids essential for growth. Yeast extract is a rich source of vitamins, particularly the B-group. Sodium chloride supplies essential electrolytes for transport and osmotic balance. In LB agars, high-pure agar-agar is added as solidifying agent.

## MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 35±2 °C and observed after 18-24 hours.

### General QC assays

Microorganisms	Growth
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibited
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Inhibited

### Specific QC assays

Art. No.	Agar medium	Microorganisms	Growth
8852	LB-Agar (Lennox) / Amp100	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pUC19	Good
8853	LB-Agar (Lennox) / Kana50	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pHSG 298	Good
8855	LB- Agar (Luria/Miller) / Amp100	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pUC19	Good
8858	LB- Agar (Luria/Miller) / Amp50	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pUC19	Good
8860	LB-Agar (Luria/Miller) / Kana50	<i>Escherichia coli</i> DH5 alpha + pHSG 298	Good

Acc. to:

- 1.) Bertani, G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 62:293-300 (1951)
- 2.) Lennox, E. S. Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. *Virology* 1:190-206 (1955)
- 3.) Luria, S. E.; Adams, J. N.; Ting, R. C. Transduction of lactose-utilizing ability among strain of *E. coli* and *S. dysenteriae* and the properties of the transducing phage particles. *Virology* 12:348-390 (1960)
- 4.) Miller, J. H. Experiments in molecular genetics. *Cold Spring Harbor Laboratory*, Cold Spring Harbor, N.Y. (1972)
- 5.) Atlas, R.M., Parks L.C. Handbook of Microbiological Media. *CRC Press*, Inc. London (1993)
- 6.) Sambrook and Russell. Molecular cloning: a laboratory manual, 3rd ed. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001)

**LB Agar (Lennox) / Amp100**  
 500 g 8852.1  
 1 kg 8852.2  
 2.5 kg 8852.3

**LB Agar (Lennox) / Kana50**  
 500 g 8853.1  
 1 kg 8853.2

**LB Agar (Luria/Miller) / Amp100**  
 500 g 8855.1  
 1 kg 8855.2  
 2.5 kg 8855.3

**LB Agar (Luria/Miller) / Amp50**  
 500 g 8858.1  
 1 kg 8858.2  
 2.5 kg 8858.3

**LB Agar (Luria/Miller) / Kana50**  
 500 g 8860.1  
 1 kg 8860.2

### Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe  
 Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

jh 09/2022

