

# M5 HiPer 噬菌体抑制剂（培养基添加用） 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 噬菌体抑制剂（培养基添加用）	50ml	MF1212-01

**【储存条件】** 4°C保存，有效期 12 个月。

## 【产品简介】

本品经过多次严格实验验证，对温和噬菌体和烈性噬菌体均具备出色的抑制作用。在不干扰菌体正常生长的前提下，能够延长菌体的生长对数期，同时对部分类型的蛋白表达具有一定的促进效果。

**【适合样本】** 适用于易受噬菌体感染的微生物，例如大肠杆菌等。

## 【注意事项】

1. 使用前请确保培养基的无菌状态，以避免其他微生物污染影响实验结果；
2. 在添加本品时，请使用经过校准的量具准确量取，以确保用量的准确性；
3. 若存储条件发生变化，可能会影响本品的效果和稳定性，请严格按照规定条件存储。

## 【使用方法】

通常情况下，每升培养基添加 2 毫升抑制剂液体（1000 : 2）即可显著发挥抗噬菌体效果，保障菌体正常生长。

噬菌体污染严重环境中，或使用发酵罐进行高密度发酵时，为保证噬菌体抑制效果，每升培养基可添加 6ml 抑制剂液体（1000 : 6）。

使用传统 LB 培养基进行发酵时，每升培养基添加抑制剂液体的量不得超过 2 毫升。

## 【常见问题解答 FAQ】

### 1、使用本噬菌体抑制剂与现有噬菌体防治手段相比有哪些优势？

在生物医药（抗生素、疫苗、蛋白药物、基因治疗载体）、工业酶制剂、生物反应器工艺研究等依赖大规模细菌培养的领域，传统防治噬菌体的方法（如设备消毒、菌种轮换）成本高且无法完全预防噬菌体污染，如果一旦发生噬菌体污染，会导致批次发酵失败，造成大量物料损失和人工成本的浪费。传统噬菌体消杀步骤繁琐，且需要耗费大量时间，影响研发和生产进度。

本噬菌体抑制剂可以作为细菌培养的保护剂使用，尽最大可能保证发酵成功率，避免物料损失，同时减轻了环境消杀等成本。抑制剂作为直接添加的解决方案更便捷。

### 2、噬菌体抑制剂抑制噬菌体的原理是什么？抑制剂的添加会影响菌的生长和蛋白表达水平吗？

本噬菌体抑制剂主要抑制噬菌体的生长繁殖。根据我们实验验证，进行大肠杆菌培养时，用富营养培养基例如 TB 培养基、2YT 培养基、本增强型 LB 预混培养基、本大肠杆菌高密度表达培养基等，抑制剂的添加不会影响菌的正常生长。若使用普通 LB 培养基，因为营养不充分，噬菌体抑制剂的添加对菌的生长有抑制作用，可以尝试用如下方案减小噬菌体抑制剂对菌的抑制作用：①延长细菌培养时间 2-4h；②根据环境爆发的剧烈程度，尝试减量使用；③通过增加溶氧的方式提高菌的生长速度；④若使用摇瓶培养，建议抑制剂在 OD<sub>600</sub> 在 0.8-1 之间的时候添加噬菌体抑制剂，若使用发酵罐培养，菌生长到 OD<sub>600</sub> 1-2 左右再添加抑制剂，上述四种方案可以根据实际实验需求组合使用。噬菌体抑制剂的添加对蛋白的正常表达不会产生影响。

### 3、说明书中，噬菌体抑制剂的用量是一个范围值，在使用时究竟按照什么比例添加？

通常情况下，每升培养基添加 2 毫升抑制剂液体（1000:2）即可显著发挥抗噬菌体效果，保障菌体正常生长。在噬菌体污染严重的环境中，或使用发酵罐进行高密度发酵时，为保证噬菌体抑制效果，每升培养基可添加 6 毫升抑制剂液体（1000:6）。

抑制剂在富营养的培养基中，最高可以加到 10ml，LB 培养基中可以最高加到 6ml。建议 2ml 考虑的是使用成本问题以及菌体生长速率问题。我们的建议用量主要考虑使用成本、菌体生长速率以及噬菌体污染情况确定的。如果环境中噬菌体处于高爆发期间，建议增加用量。

### 4、加噬菌体抑制剂一点效果都没有，什么原因？

添加噬菌体抑制剂没有效果的原因有多种，常见有如下原因：①摇瓶培养发现过夜菌不长，大概率是菌种活性问题，同时也需要观察是否存在培养条件失控、装液量过大的情况；②环境中噬菌体爆发期，建议通过小型梯度实验，摸索合适用量；③实验室内部除了噬菌体之外，可能存在真菌、曲霉、金黄色葡萄球菌等杂菌污染，这就需要进行严格的消毒处理、执行严格的无菌操作规范，以避免杂菌污染带来的影响。

为此，根据实际操作经验，可以通过下面方法对培养体系的污染情况进行判断：

如果只有细胞碎片，大概率是噬菌体污染；

如果 OD<sub>600</sub> 值在 1 以下时菌出现死亡（菌体生长 1-3 小时，诱导前），则考虑感染烈性噬菌体；

如果 OD<sub>600</sub> 值在 1 到 2 之间，诱导之后逐渐开始死亡（有些 1-3 小时，有些 5 小时左右），则考虑温和噬菌体污染；

如果同时伴有白色絮状物，或粘性的，或拉丝状的，或蘑菇状的，或有聚集状白色的，则考虑伴随杂菌污染。

### 5、添加抑制剂后，细菌在发酵罐中前期不生长或生长缓慢？

出现 OD<sub>600</sub> 值到 2-3 后，不再增长时，请仔细检查发酵罐罐压是否稳定，建议增加通气量。

如果生长缓慢，那么建议抑制剂在 OD<sub>600</sub> 1-2 左右时进行添加。

环境恶劣的情况下，在诱导时进行抑制剂补加，具体用量视环境污染程度而定。

### 6、用发酵罐发酵时，添加了抑制剂，前期比较正常，但后期出现菌体死亡，这是什么原因？

出现这种情况，主要应对发酵操作过程进行排查。以下原因往往会导致发酵后期菌体死亡：

① 营养物质耗尽。发酵后期，碳源（如葡萄糖）、氮源（如铵盐）或其他关键营养（如磷酸盐、微量元素）可能耗尽，导致细菌无法维持代谢活动。主要表现为溶氧突然上升（细菌停止耗氧）、pH 异常波动（代谢活动停滞）。

② 代谢产物积累。细菌代谢产生的副产物（如乳酸、乙酸、乙醇、氨、CO<sub>2</sub>等）可能达到毒性浓度，抑制生长甚至导致死亡。

③ 溶解氧（DO）不足或过量。

好氧菌：后期菌体密度高，需氧量大为增加，若供氧不足（搅拌或通气不足），会导致缺氧死亡。兼性厌氧菌：过量溶氧可能诱导氧化应激反应（如自由基积累）。

④ pH 失控。代谢产物（如有机酸、碱）导致 pH 超出菌种耐受范围，影响酶活性和细胞膜稳定性。

⑤ 温度波动。发酵后期代谢产热增加，若冷却系统失效，温度升高可能引起蛋白质变性或代谢紊乱。

⑥ 菌种自身问题。质粒丢失、基因突变或代谢途径异常（如过度表达外源蛋白导致“代谢负担”）。

⑦ 杂菌或噬菌体污染。杂菌竞争营养或分泌毒素。如果添加了噬菌体抑制剂，一般不会在后期出现噬菌体感染导致细菌裂解情况，但也存在因通气带来噬菌体持续性输入，影响抑制剂效果，建议补加噬菌体抑制剂。

### 7、抑制剂是否再次灭菌？该如何添加？

本噬菌体抑制剂生产过程中，会进行 0.22μm 过滤除菌和高温灭菌处理，无需再次灭菌。可以按照说明书指导比例或实际需要的比例，直接加入到摇瓶或发酵罐的培养基（灭菌后）中，添加方式与抗生素相同。

8、噬菌体抑制剂大量使用一段时间后是否会产生抗药性呢？ 不会产生任何抗药性，请放心使用。

#### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。