



灭瘟素 S (Blasticidin S HCl)

产品描述

Blasticidin S 是来源于灰色链霉菌(*Streptomyces griseochromogenes*)的一种核苷类抗生素, 中文名为灭瘟素 S、杀稻瘟菌素 S 或稻瘟散, 一般为盐酸盐。Blasticidin S 常用于筛选携带 bsr/BSD/bls 基因(常标记为 bsrr/bsdr/Blastr)质粒的哺乳动物稳定转染细胞株, 具有快速而强效的作用模式, 很低的抗生素浓度便能使未携带抗性基因的细胞迅速死亡。

Blasticidin S 通过干扰核糖体结合肽段而特异性抑制原核细胞或真核细胞的蛋白合成。目前已经有 3 种灭瘟素耐受基因, 一种是分离自链霉菌(*Streptoverticillum* sp.)的乙酰基转移酶基因 bls; 另外两种是脱氨酶基因, 分别是蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)中分离的 bsr 和从土霉菌(*Aspergillus terreus*)中分离的 BSD 基因。bsr 和 BSD 基因是最常用的筛选标志, 用于哺乳动物和植物细胞的稳定细胞株筛选。Blasticidin S 也可用于大肠杆菌(*E. coli*)等原核细胞的筛选。

Blasticidin S 具有快速而强效的作用模式, 在很低的抗生素浓度下便能导致细胞快速死亡。大肠杆菌通常对 50 μ g/ml 的浓度敏感, 而哺乳动物细胞对低至 2-10 μ g/mL 的浓度敏感。细胞死亡迅速发生, 通常可在不到一周的时间内即可形成具有 Blasticidin S 抗性的稳定哺乳动物细胞系。本产品为粉末装, 10mg/mL 包装配制在 HEPES (pH7.4)缓冲溶液中, 浓度为 10mg/mL, 经 0.22 μ m 滤膜过滤除菌, 可以直接用于细胞培养。

订购信息

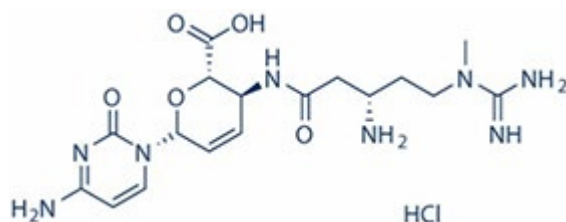
产品名称	货号	规格
灭瘟素 S (Blasticidin S HCl)	AB11L221	10 mg

运输与保存

常温运输。4 $^{\circ}$ C 保存, 有效期 36 个月。

技术参数

CAS:	3513-03-9	分子式:	$C_{17}H_{26}N_8O_5 \cdot HCl$
分子量:	458.9	纯度:	>95%
纯度:	Potency \geq 900mcg/mg.	水分:	\leq 5.0%
结构式:			



使用方法

1. 推荐工作浓度

推荐的作用于哺乳动物细胞的 Blasticidin S 浓度一般为 1-50 μ g/mL, 但最佳工作浓度需要通过剂量反应曲线来确定。



表 1.部分常见哺乳动物细胞的推荐工作浓度表

细胞名称	细胞类型	Blasticidin S 浓度
A549	Human lung cancer	10 μ g/ml
CHO	Chinese hamster ovarian	5-10 μ g/ml
HEK293	Human embryonic kidney	5-15 μ g/ml
HeLa	Human cervical cancer	2.5-10 μ g/ml
HepG2	Human hepatocellular carcinoma	4-5 μ g/ml
Neuro2a	Mouse neuroblasts	30 μ g/ml
HT1080	Human fibrosarcoma	5-20 μ g/ml
MCF-7	Human breast cancer	2-5 μ g/ml
THP-1	Human monocytes	10 μ g/ml
B16	Mouse melanoma tumor	3-10 μ g/ml

2. Blasticidin S 剂量反应曲线的确定

Blasticidin S 的有效筛选浓度与细胞类型、生长状态、细胞密度、细胞代谢及细胞所处细胞周期等因素相关。为了筛选到具有 Blasticidin S 抗性的稳定细胞株, 需要确定杀死未转染/感染宿主细胞所需的 Blasticidin S 的最低浓度, 可以通过实验来确定适合自身实验体系的剂量反应曲线(dose-response curve or kill curve)。

- (1) 第一天: 将正常的细胞按照约 25% 的密度接种在适宜的细胞培养板上, 于细胞培养箱内培养过夜。
- (2) 第二天: 将培养过夜的细胞培养基换成新鲜的含不同浓度 Blasticidin S 的筛选用培养基, Blasticidin S 浓度可以设置为 0、2、4、6、8 和 10 μ g/mL 等, 每个浓度设置 2 个复孔, 于细胞培养箱内继续培养。【注】: 也可以根据自己的实验体系, 设置不同的浓度梯度。
- (3) 每 3-4 d 更换新鲜的筛选培养基, 并观察存活细胞的比例。
- (4) 选择在加入 Blasticidin S 后 7-10 d 杀死大多数细胞的最低浓度为最佳筛选浓度。

3. 哺乳动物稳定表达细胞株的筛选

转染含有 bsr 或 BSD 基因的质粒或者感染含有该基因的病毒后, 即可筛选稳定表达株。

- (1) 细胞转染或感染 48h 后, 将细胞置于含有适当浓度 Blasticidin S 的新鲜培养基中培养, 此为处理组。【注】: 当细胞处于分裂活跃期时, 抗生素作用最明显。细胞过于密集, 抗生素产生的效力会明显下降, 所以细胞的密度最好不超过 25%。建议同时做一个正常细胞的对照组。转染或感染 48 h 后, 如果细胞过密也可以消化后重新接种细胞, 培养过夜后即可进行 Blasticidin S 筛选。
- (2) 每 3-4 d 去除培养基, 加入含 Blasticidin S 的新鲜培养基。
- (3) 筛选 7-10 d 后, 对照组正常细胞应该 100% 死亡, 处理组中存活的细胞为表达 bsr 或 BSD 基因的细胞。然后根据实验目的进行多克隆或单克隆细胞的筛选。根据宿主细胞种类和转染/筛选效率, 集落形成可能需要一周或更多的时间。
- (4) 克隆形成后, 挑取并转移 5-10 个抗性克隆到 35mm 细胞培养板中, 加入选择培养基维持培养 7 d。随后用细胞毒性实验进行检测。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域
2. 用于细胞实验, 溶解后, 须用一次性针头滤器过滤除菌。
3. 抗生素不稳定, 请在有效期内尽快使用。
4. 以上数据均来自公开文献, 和元李记暂未对本产品进行独立验证, 仅供参考。