

Blasticidin S (杀稻瘟菌素)

产品货号	产品名称	规格	储存条件	保质期
IMC-604-1 mL	Blasticidin S (杀稻瘟菌素)	10 mg/ mL *1 mL	-20℃	24 个月

产品简介

Blasticidin S 是来源于灰色链霉菌 (*Streptomyces griseochromogenes*) 一种核苷类抗生素, 中文名为灭瘟素 S。Blasticidin S 用于筛选携带有 bsr/BSD/bls 基因 (常标记为 bsr^r/bsd^r、Blast^r) 质粒的哺乳动物稳定转染细胞株。杀稻瘟菌素具有快速而强效的作用模式, 很低的抗生素浓度便能导致细胞迅速死亡。

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 也可用于大肠杆菌等原核细胞的筛选。

使用说明

一、推荐工作浓度

1. *Escherichia coli*

E. coli 对 Blasticidin S 的敏感性稍差, 但是转化子对 Blasticidin S 具有耐受性, 可以用低盐 LB 培养基 (pH 8) 进行筛选, 浓度范围为 50-100 μg/ mL Blasticidin S。高 pH 值可以提高 Blasticidin S 的活性。

2. 哺乳动物细胞

哺乳动物细胞中 Blasticidin S 的工作浓度范围在 1-50 μg/ mL。初次实验建议通过剂量反应曲线来确定最佳使用浓度。一些哺乳动物细胞的建议工作浓度:

细胞	种属	组织	Blasticidin S 浓度 (μg/ mL)
HeLa	Human	Uterus	3-10

293	Human	Kidney	3-10
B16	Mouse	Melanoma	3-10
PC1.0	Hamster	Adenocarcinoma	10-30
MCF-7	Human	Breast	2-5
A549	Human	Lung	10

二、哺乳动物稳转株筛选

Blasticidin S 通常使用浓度为 10 μ g/mL。携带 bsr 或 BSD 基因的质粒转染到细胞中，在含有 Blasticidin S 的正常生长培养基中孵育，用于筛选稳定转染细胞株。

1. 细胞转染后 48h，用含有适宜浓度 Blasticidin S 的新鲜培养基将细胞传代(注:细胞处于活跃分裂期时抗生素工作最好。细胞密度太高，抗生素效率降低。细胞分盘时覆盖率最好不超过 25%。建议同时做一个正常细胞的对照组。转染或感染 48 小时后，如果细胞过密也可以消化后重组接种细胞，培养过夜后即可进行 Blasticidin S 筛选)。
2. 每 3-4 天去除培养基，加入含 Blasticidin S 的新鲜培养基。
3. 筛选 7-10 天后，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，转移 5-10 个耐受克隆到 35mm 细胞盘中，加入选择培养基维持培养 7 天。随后用细胞毒性实验进行检测。

注意事项

1. 本产品对人体有急性毒性，操作时请特别小心，并确保有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。