

产品说明书

灭瘟素S

产品名称	目录号	产品规格	储存条件	保质期
灭瘟素 S	SP00317	5 mL	-20°C	12 个月
灭瘟素 S	SP00317	1 mL	-20°C	12 个月

产品说明:

灭瘟素S (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, 是细菌和真核细胞中蛋白合成的强效抑制剂, 同时对真菌、线虫和肿瘤细胞也具有活性。

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, 分别是从小芽孢杆菌(*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 µg/mL的浓度敏感, 而哺乳动物细胞对低至2-10 µg/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10 mg/mL包装配制在HEPES (pH7.4)缓冲溶液中, 浓度为10±0.3 mg/mL, 经0.22 µm滤膜过滤除菌, 可以直接用于细胞培养。

2 使用方法:

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 µg/mL, 但最佳工作浓度需要通过剂量反应曲线来确定。

lasticidin 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)。

a. 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。



b. 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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。

c. 每3-4天更换新鲜的筛选培养基，并观察存活细胞的比例。

d. 选择在加入Blasticidin S后7-10天杀死大多数细胞的最低浓度为最佳筛选浓度。

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。

a. 细胞转染或感染48小时后，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。

注意：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小时后，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。

b. 每3-4天去除培养基，加入含Blasticidin S的新鲜培养基。

c. 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。

d. 克隆形成后，挑取并转移5-10个抗性克隆到35 mm细胞培养板中，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。

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 $\mu\text{g}/\text{mL}$
CHO	Chinese hamster ovarian	5-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$
HEK293	Human embryonic kidney	5-15 $\mu\text{g}/\text{mL}$
HeLa	Human cervical cancer	2.5-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$
HepG2	Human hepatocellular carcinoma	4-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Neuro2a	Mouse neuroblasts	30 $\mu\text{g}/\text{mL}$
HT1080	Human fibrosarcoma	5-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$
MCF-7	Human breast cancer	2-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$
THP-1	Human monocytes	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$
B16	Mouse melanoma tumor	3-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$

3 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。

