

Blasticidin S HCl

产品编号: LT030

包装规格: 200 µl (10 mg/mL)

储存条件: -20℃, 可保持稳定至少 12 个月, 冰袋运输。

■ 产品概述

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 *bsr^r/bsd^r/Blast^r*)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 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。本产品的浓度为 10 mg/mL, 可以直接用于细胞培养。

■ 注意事项

1. 为了您的健康安全, 请注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
2. 尽量减少反复冻融的次数, 以免效价降低。
3. 注意无菌操作, 避免污染。
4. 本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

■ 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 µg/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	推荐浓度
A549	Human lung cancer	10 µg/mL
CHO	Chinese hamster ovarian	5-10 µg/mL
HEK293	Human embryonic kidney	5-15 µg/mL
HeLa	Human cervical cancer	2.5-10 µg/mL
HepG2	Human hepatocellular carcinoma	4-5 µg/mL
Neuro2a	Mouse neuroblasts	30 µg/mL
HT1080	Human fibrosarcoma	5-20 µg/mL
MCF-7	Human breast cancer	2-5 µg/mL
THP-1	Human monocytes	10 µg/mL
B16	Mouse melanoma tumor	3-10 µg/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)。

A. 第一天：将正常的细胞在 24 孔板中按照约 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 的筛选培养基，Blasticidin S 浓度可以设置为 0、2、4、6、8 和 10 $\mu\text{g/mL}$ 等，每个浓度设置 2 个复孔，于细胞培养箱内继续培养。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。

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。

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 35mm 细胞培养板中，加入选择培养基维持培养 7 天。之后进行稳定细胞株的维持培养。

LT030-010625

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。