

## Phleomycin(20 mg/mL in solution) 腐草霉素

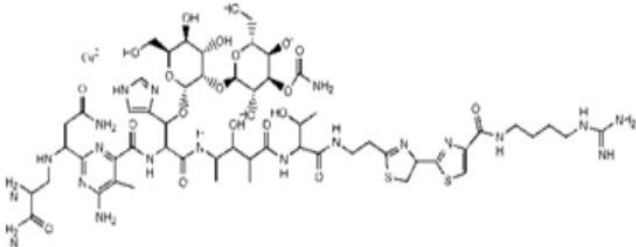
### 产品简介

Phleomycin, 中文名腐草霉素, 由 *Streptomyces verticillus* (轮枝链霉菌) 的突变株产生的一种糖肽抗生素, 属于博来霉素(bleomycin)家族。抑菌机制在于腐草霉素可结合并插入 DNA, 从而破坏其双螺旋结构的完整性。腐草霉素对大多数细菌、真菌、酵母、植物细胞和哺乳动物细胞都有活性, 尤其适用于对 Zeocin 敏感性低的细胞, 如酵母菌和丝状真菌。

腐草霉素是分子遗传学研究中的选择性抗生素之一, 可用于筛选携带 Sh ble 基因的转染细胞。Sh ble 基因来源于 *Streptoalloteichus hindustanus*, 其可编码一种 14 kDa 的蛋白, 该蛋白可与腐草霉素强烈结合从而抑制其切割 DNA 链的活性。腐草霉素是由多种结构类似物构成的复合物, 这些复合物仅仅在末端胺基有所差异。另外, 因属于铜离子螯合的复合物, 溶液呈蓝色。

本品以 20 mg/mL 的无菌溶液形式提供, 可直接用于细胞培养, 在 0.1-50  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内, 腐草霉素可以抑制大多数好氧细胞的生长。

### 产品信息

货号	60217ES20 / 60217ES60
规格	20 mg / 5 X 20 mg
CAS 号 (CAS NO.)	11006-33-0
分子式 (Molecular Formula)	$\text{C}_{55}\text{H}_{85}\text{O}_{21}\text{N}_{20}\text{S}_2\text{Cu}\cdot\text{HCl}$
分子量 (Molecular Weight)	1525 g/mol
结构 (Structure)	

### 储存条件

2~8°C或-25~-15°C保存。2~8°C有效期 12 个月, -25~-15°C有效期 18 个月。避免反复冻融。

### 使用说明

#### 【注意事项】

1) 细胞对腐草霉素的敏感性受 pH 值影响, 如 pH 值越高, 敏感性越高; 另外, 对于高渗透压培养基如原生质体再生用的培养基, 腐草霉素的活性会明显降低 2-3 倍。因此也可能通过使用低盐培养基来降低腐草霉素使用量。

2) 使用前, 需将低温存放的腐草霉素置于室温回温, 之后低速充分混匀。

#### 1. 大肠杆菌

携带 bleomycin 抗性基因如 Sh ble, Tn5 的质粒, 一旦转化进入大肠杆菌受体菌如 HB101, DH5a, MC1061, 赋予其腐草霉素抗性。

腐草霉素抗性的转化子可以在添加 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Phleomycin 的低盐 LB 琼脂培养基 (Yeast extract 5 g/L, Tryptone 10 g/L, NaCl 5 g/L, Agar 15 g/L, pH 7.5) 中进行筛选。加有腐草霉素的平板可于 4°C 稳定保存 1 个月。

## 2. 酵母菌

酿酒酵母的腐草霉素抗性转化子可在添加 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Phleomycin 的 YEPD 培养基中进行筛选。

操作步骤: 按常规方法进行酵母细胞转化, 一旦 DNA 进入细胞后, 用 YEPD 培养基稀释细胞并置于摇床上培养 6 h 或过夜, 使其抗性性状得以表达。之后将细胞冰浴 1 h 并涂布培养在添加 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Phleomycin 的 YEPD (pH 7.0) 固体培养基上。

## 3. 真菌

根据转化子对 Phleomycin 的敏感性不同, 在添加有 10-50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  腐草霉素的再生培养基内进行筛选。先将细胞在 4°C 孵育过夜然后置于生长温度培养, 可提高其对抗生素的敏感性。

## 4. 植物细胞

根据植物类型不同, 选择 5-25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Phleomycin 进行转化子筛选。

## 5. 哺乳动物细胞

5-50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Phleomycin, 推荐先通过建立灭杀曲线来确定最佳浓度。与 G418 做比较, 可能需要更长的时间来杀死细胞或者使细胞从平板上脱落, 尤其当细胞处于高密度的情况。

依细胞系不同, 通常需要 5~21 天来挑选具腐草霉素抗性的稳定转染细胞。

## 注意事项

1. 腐草霉素对浓酸较为敏感, 但可短时间暴露于稀酸中。使用前将本品回温至室温, 并轻轻混匀。
2. 腐草霉素有毒, 避免直接接触皮肤, 不可吞服。酸性或碱性 pH, 或次磷酸钠中会即刻失效。
3. 本品有毒害, 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本产品仅用于科研用途, 禁止用于人身上。