Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

V 1.0.0

Bleomycin hydrochloride

盐酸博莱霉素

产品介绍：

盐酸博来霉素是博来霉素/腐草霉素抗生素家族的一个成员，是从 Streptomyces verticillus 中分离的水溶性、铜离子螯合糖蛋白抗生素，铜离子存在使得溶液呈蓝色。这种铜离子螯合形式是没有活性的，当抗生素进入细胞后，Cu^{2+} 被还原成 Cu^{+}，并被细胞中的巯基化合物除去。此时，盐酸博来霉素才被活化并与 DNA 结合，对 DNA 进行切割，从而引起细胞死亡。而盐酸博来霉素耐受基因（Sh ble）编码的蛋白质可以与盐酸博来霉素结合，并抑制盐酸博来霉素切割 DNA。盐酸博来霉素作用谱非常广，其对细菌，真菌（包括酵母菌）、植物和哺乳动物细胞都有很强的抗菌活性，因此盐酸博来霉素常用作一种非常有效的工具抗生素，用来筛选携带 Sh ble 抗性基因并能稳定表达分子量为 13.665 kDa 的一种盐酸博来霉素抗性蛋白的细胞株。

本产品为溶于高纯度水的无菌溶液形式，浓度为 100 mg/mL，细胞培养级。

化学特性：

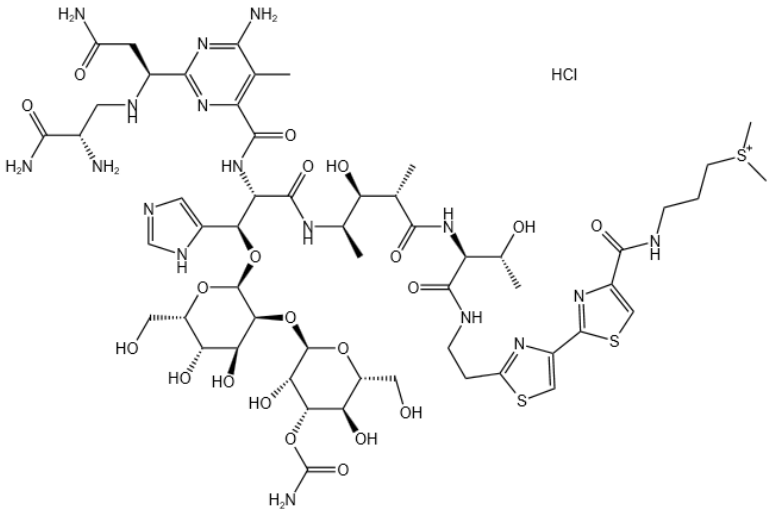
CAS: 67763-87-5

分子式: $C_{55}H_{84}ClN_{17}O_{21}S_3$

分子量: 1451

纯度: >95% by HPLC

结构式:



产品信息：

产品编号	产品名称	规格
GM-040407-100MG	Bleomycin hydrochloride 盐酸博莱霉素	100 mg
GM-040407-1G	Bleomycin hydrochloride 盐酸博莱霉素	100 mg×10

保存条件：

冰袋运输。产品-20℃避光保存。避免反复冻存，有效期 1 年。

应用浓度：

1. **大肠杆菌（E. coli）：** 25-50 μg/mL，用低盐 LB 培养基筛选（NaCl 浓度不能超过 5 g/L)。
2. **哺乳动物细胞：** 50-1000 μg/mL，根据细胞选择合适的培养基。

操作步骤（哺乳动物细胞筛选）：

【注意事项】

1) 盐酸博来霉素用于筛选哺乳动物稳定转染细胞的浓度范围为 50-1000 μg/mL，平均工作浓度范围为 250-400 μg/mL。影响筛选浓度的主要因素包括离子强度，细胞类型，细胞密度以及生长速率。以下步骤仅作参考，请根据自身实验体系做适当调整。

2) 盐酸博来霉素的杀灭机制不同于新生霉素（neomycin）和潮霉素（hygromycin），细胞不会聚集成团或从培养板表面脱落。一旦接触到盐酸博来霉素，敏感细胞会出现如下的形态变化：a）细胞体积明显增加（类似于巨细胞病毒感染容纳性细胞引起的肿大效应）；b）异常的细胞形状包括细胞长臂（long appendages）出现；c）胞浆内出现大型空泡（源于内质网、高尔基体或支撑蛋白的破裂）；d）质膜和核膜破裂，导致膜上出现许多孔。这些敏感细胞最终会完全破损，仅以细胞碎片的形式存在。

3) 盐酸博来霉素抗性细胞继续正常生长，长成不同于敏感细胞的克隆。形态上，其与未接触盐酸博来霉素的正常细胞没有差异。

1. 建立杀灭曲线

1) 重新铺板或者将满盘细胞重新分盘，使得细胞密度约 25%，按照 8 个平板/组准备，培养 24 h。

2) 去除旧培养基。加入含不同浓度盐酸博来霉素的筛选用培养基，盐酸博来霉素浓度可设置为 0，50，100，200，400，600，800 和 1000 μg/mL，每个浓度做 3 个平行；也可根据自身实验体系，设置不同的浓度梯度。

3) 每 3-4 天更换新鲜的筛选培养基，并观察存活细胞的比例。选择在合适的时间（1-2 周内）杀死大多数细胞的浓度为最佳工作浓度。

【注】：若是难以在显微观察下区分活细胞，也可用台盼蓝染色来计算存活细胞的数量，以确定盐酸博来霉素的最适浓度。

2. 筛选稳定转染细胞

1) 转染细胞，用 100 mm 培养皿进行培养。以未转染的细胞作为阴性对照。

2) 转染后，用预热的 1× PBS 洗涤一次，加入新鲜培养基。

3) 转染 48-72 h 后，用含有最佳浓度盐酸博来霉素（由灭杀曲线确定）的新鲜培养基筛选细胞。为了更好的鉴定和筛选细胞集落，建议将细胞按比例稀释成一系列浓度。

【注】：若待筛选细胞对盐酸博来霉素的抗性明显强于大部分细胞，或者细胞快速分裂导致低浓度情况盐酸博来霉素的筛选效果不明显，按照以下方法克服此类耐性：a）将细胞直接用含盐酸博来霉素的筛选培养基进行分盘；b）37℃孵育 2-3 h 直至细胞贴壁；c）从培养箱内取出细胞并于 4℃放置 2 h，一定要确保培养基内含有 HEPES。【此步的目的在于短时间内终止细胞分裂活动，从而允许盐酸博来霉素抗性得以发挥，杀死细胞。】d）细胞重新放回 37℃培养箱内培养。

4) 每 3-4 天加入选择培养基，直到出现细胞集落。

5) 挑选并转移克隆到 96 或 48 孔板中。在进行更大孔径培养板或培养皿上扩大培养之前，确保培养细胞密度近 100%。

3. 维持培养稳定转染细胞

可采取以下方式维持培养稳定转染细胞：1）使用含相同剂量盐酸博来霉素的筛选培养基来维持培养；2）降低盐酸博来霉素剂量为原来的一半进行维持培养；3）使用正好能预防敏感细胞生长但不足以致死的盐酸博来霉素剂量来维持培养【参考杀灭曲线】。

注意事项：

1. 本品具有一定的光敏感型，操作与培养过程尽量暗处进行。产品保存尽量避光。
2. 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。
3. 本产品仅用于科研用途，禁止用于人身上。