

Phleomycin Solution (20mg/ml)

腐草霉素溶液 (20mg/ml)

产品编号	产品名称	规格
BL1883A	腐草霉素溶液 (20mg/ml)	1 ml

产品简介:

腐草霉素 (Phleomycin) 是以 Phleomycin D1 为主的结构类似的糖肽类抗生素混合物, 是从轮状链霉菌 (*Streptomyces verticillus*) 的一个突变体菌株中分离而来。它对细菌、真菌 (包括酵母)、植物和哺乳动物细胞均有抑制作用和细胞毒性。它对细菌、真菌、植物和哺乳动物细胞均有抑制作用和细胞毒性, 常用于筛选表达 Zeocin 抗性基因的多克隆或单克隆细胞, 或用于相应的多克隆或单克隆细胞的维持性培养。大肠杆菌筛选推荐浓度为 5 μ g/ml (低盐 LB 培养基, NaCl 浓度不能超过 5g/L), 酵母筛选推荐浓度为 10 μ g/ml, 哺乳动物细胞筛选推荐浓度为 5~50 μ g/ml。

本产品有效成分和 Zeocin 基本一致, 都为 Phleomycin D1, 抗性基因也都为 Sh ble。两者的配方有一定的区别, Zeocin 是以 Phleomycin D1 为主要成分的一种配方, 添加了不同的辅料, 更适用于哺乳动物细胞的筛选; 而 Phleomycin 是结构相似抗生素的混合物, 它们的末端氨基有一定的区别, 建议用于对 Zeocin 不敏感的细胞, 如丝状真菌和一些酵母等。

本产品配制在 HEPES 溶液中, 浓度为 20mg/ml, 经滤膜过滤除菌, 可以直接用于细胞培养。

使用方法 (仅供参考):

本产品通常以 5-50 μ g/ml 的浓度使用。然而, 影响筛选浓度的主要因素包括离子强度、细胞类型、细胞生长密度以及生长速率等。根据细胞类型的不同, 需要 1-2 周可以筛选到 Phleomycin 抗性的细胞, 最佳工作浓度需要通过剂量效应曲线来确定。

一、最佳工作浓度的确定:

1、接种细胞使得细胞密度约为 25%, 按照 16 或 24 个细胞培养孔 (分别为复孔或三复孔) 准备培养的细胞, 培养 24h。

2、去除细胞培养液, 换成含不同浓度 Phleomycin 的新鲜筛选培养液 (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 和 100 μ g/ml)。

3、每 2-4 天更换新鲜的筛选培养液, 观察存活细胞的比例, 选择在 1-2 周内杀死所有细胞的最低浓度作为最佳工作浓度。

二、稳定细胞株的筛选:

1、按照 20%-30% 的细胞密度接种细胞, 培养过夜。

2、转染携带 Phleomycin 抗性基因的质粒或感染携带 Phleomycin 抗性基因的病毒, 同时设置没有转染质粒或感染病毒的细胞作为对照。

3、转染或感染 48-72h 后, 换成含有最佳工作浓度的 Phleomycin 的新鲜培养液, 继续培养。如果有必要, 可以对细胞进行传代, 略稀释后进行筛选培养。

4、每 2-4 天更换含有 Phleomycin 的新鲜筛选培养液。

5、对照组正常细胞 100% 死亡, Phleomycin 抗性组中存活的细胞即为表达 Phleomycin 抗性基因的细胞。然后根据实验目的进行多克隆或单克隆细胞的筛选。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



三、稳定细胞株的维持：（可选取以下方式之一）

- a. 使用含有与上述筛选稳定转染细胞株相同浓度的 Phleomycin 筛选培养液来维持培养。
- b. 降低 Phleomycin 浓度为筛选浓度的一半进行维持培养。
- c. 使用刚好能预防敏感细胞生长但不足以致死的 Phleomycin 浓度来维持培养。

注意事项：

- 1、 本产品人体有害，操作时请小心，并注意有效
- 2、 本产品在过高或过低 pH 及弱氧化剂的条件下不稳定，且变性不可逆。在培养细菌时，需适当降低细菌培养基的盐浓度(低盐 LB 培养基，NaCl 浓度不能超过 5g/L)并调整 pH 至 7.5，从而使其保持活性。
- 3、 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。
- 4、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

-20℃ 避光保存，至少一年有效。避免反复冻融。

