

Zeocin(博来霉素)

Cat. No	产品名称	规格	储存条件	保质期
IMC-607-1 mL	Zeocin(博来霉素)	20mg/mL*1 mL	-20℃	12 个月

产品简介

Zeocin 即 phleomycin D1, 中文名称博来霉素或者腐草霉素 D1, 是从轮状链霉菌(*Streptomyces verticillus*)的一个突变体菌株中分离而来的博来霉素/腐草霉素(bleomycin/phleomycin)的抗生素家族成员。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。

Zeocin 是一种碱性、水溶性的、铜离子螯合的糖肽抗生素。 Cu^{2+} 螯合的 Zeocin 溶液呈现蓝色, 无活性。当其进入细胞后, Zeocin 上的 Cu^{2+} 被还原为一价铜离子(Cu^+), 并被细胞内的巯基化合物(sulfhydryl compound)清除, 导致 Zeocin 被活化, 能够结合到细胞内 DNA 上并使其断裂, 最终导致细胞死亡。

对 Zeocin 产生抗性的蛋白是来源于印度链球菌(*Streptoalloteichus hindustanus*)的 *Sh ble* 基因编码一种 14kDa 大小的蛋白, 它能够以一定比率结合 Zeocin, 使其不能结合细胞 DNA, 抑制其 DNA 断裂活性, 从而使细胞对 Zeocin 产生抗性。因此, Zeocin 可用来筛选表达 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。

Zeocin 对于绝大多数好氧细胞均有效, 常用于细菌(如大肠杆菌)、真核微生物(如酵母)及动植物细胞的筛选。大肠杆菌筛选推荐浓度为 $25\sim 50\ \mu\text{g/mL}$ (低盐 LB 培养基, NaCl 浓度不能超过 5g/L); 酵母筛选推荐浓度为 $50\sim 300\ \mu\text{g/mL}$ (YPD 或基本培养基); 哺乳动物细胞筛选推荐浓度为 $50\sim 1000\ \mu\text{g/mL}$ (合适培养基, 根据细胞系的类型而不同)。实际应用时, 应针对不同的细胞系测试 Zeocin 的浓度梯度, 以确定最佳使用浓度。

产品信息

应用领域	细胞培养相关试剂
产品类别	细胞培养抗生素
产品外观	液体
原料来源	非动物源

无菌级别	过滤除菌
PH	7.1-7.7
内毒素水平	≤1 EU/mL

使用说明

1. 细菌的筛选(以大肠杆菌为例)。

- 使用不含 Tn5 转座子元件的宿主细胞如 Top10、DH5 和 DH10 等进行筛选
- 需使用低盐 LB 培养基(10g 胰蛋白胨, 5g NaCl, 5g 酵母提取物, 调整 pH 至 7.5, 加水定容至 1L)以维持 Zeocin 的活性。
- Zeocin 筛选的推荐浓度为 25~50 $\mu\text{g/mL}$ 。

2. 真菌的筛选(以酵母为例)。

- 适用于酿酒酵母和毕赤酵母。
- 培养基的选择: 含 1M 山梨醇的 YPD 培养基(适用于电穿孔法转染细胞); YPD 或基本培养基(适用于化学法转染细胞)。调整培养基 pH 至 6.5~8.0, 并选择使用最低有效浓度的 Zeocin 进行筛选。
- 转染方法: 需使用电穿孔或锂离子转染法。不要使用酵母原生质球(spheroplasting)进行 Zeocin 抗性的转染及筛选, 因为 Zeocin 会导致原生质球的完全死亡。
- Zeocin 筛选的推荐浓度为 50~300 $\mu\text{g/mL}$ 。具体浓度与酵母菌株、培养基 pH 以及离子强度有关。

3. 哺乳动物稳定表达细胞株的筛选。

Zeocin 用于哺乳动物细胞筛选常用浓度为 50-1000 $\mu\text{g/mL}$ (平均常用浓度为 250-400 $\mu\text{g/mL}$)。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。根据细胞类型的不同, 需要 1-2 周可以筛选到 Zeocin 抗性的细胞。在筛选稳定表达细胞株之前, 需要先确定能够杀死未转染细胞的 Zeocin 最佳工作浓度。Zeocin 的最佳工作浓度需要通过剂量效应曲线来确定。下表中列出了部分细胞中 Zeocin 的筛选浓度范围以供参考。

表 1. 部分常见哺乳动物细胞的 Zeocin 推荐筛选浓度表

Cell Type	Culture Medium	Zeocin Concentration
B16 (Mouse melanocytes)	RPMI	20-250 $\mu\text{g/mL}$
CHO (Chinese hamster ovarian cells)	DMEM	100-500 $\mu\text{g/mL}$
COS (Monkey kidney cells)	DMEM	100-400 $\mu\text{g/mL}$

HEK293 (Human embryonic kidney cells)	DMEM	100–400 μ g/mL
HeLa (Human uterine cells)	DMEM	50–100 μ g/mL
J558L (Mouse melanocytes)	RPMI	400 μ g/mL
MCF-7 (Human breast adenocarcinoma cells)	DMEM	100–400 μ g/mL
MEFs (Mouse embryonic fibroblasts)	DMEM	200–400 μ g/mL
THP-1 (Human monocytes)	RPMI	200 μ g/mL

注意事项

1. Zeocin 人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
2. Zeocin 对光敏感，需避光保存于-20℃。含有该抗生素的平板或培养基也需避光保存。
3. 高离子强度、酸或碱性都会抑制 Zeocin 的活性，该抗生素在过高或过低 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。
4. 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。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。