

Hygromycin B

产品编号: LT020 / LT020-T

包装规格: 200 µl / 1 mL (50 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

潮霉素 B (Hygromycin B) 是由吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus*) 代谢产生的一种氨基糖苷类抗生素, 通过干扰 70S 核糖体易位和诱导对 mRNA 模板的错读而抑制蛋白合成, 从而杀死原核、真核和高等哺乳动物真核细胞。

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 来源的潮霉素抗性基因 (hyg 或 hph), 编码潮霉素 B 磷酸转移酶, 可将潮霉素 B 转化成磷酸化产物, 使其失去生物活性。因此, 潮霉素 B 可用于筛选、维持培养成功转染了潮霉素抗性基因的原核或真核细胞。

■ 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。

■ 使用方法

1. 常用筛选浓度

潮霉素 B 用来筛选稳转株的工作浓度需要根据细胞类型, 培养基, 生长条件和细胞代谢率而变化, 推荐使用浓度为 50-1000 µg/mL。对于第一次使用的实验体系建议通过建立杀灭曲线 (kill curve), 即剂量反应性曲线, 来确定最佳筛选浓度。

一般而言, 哺乳动物细胞 50-500 µg/mL; 细菌/植物细胞 20-200 µg/mL; 真菌 300-1000 µg/mL。

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
CHO	Chinese hamster ovarian cells	0-250 µg/mL
Hela	Human uterine cells	0-500 µg/mL
Jurkat T-Cell	Human Jurkat T cells	0-1000 µg/mL

2. 杀灭曲线的建立

为了筛选得到稳定表达目的蛋白的细胞株, 需要确定能够杀死未转染宿主细胞的抗生素最低浓度, 可通过建立杀灭曲线 (剂量反应曲线) 来实现, 至少选择 5 个浓度。

A. 第一天: 未转化的细胞在 24 孔板中按照 20-25% 的细胞密度铺在合适的培养板上, 37 °C, CO₂ 培养过夜。

注意: 对于需要更高密度来检测活力的细胞, 可增加接种量。

B. 根据细胞类型, 设定合适范围内的浓度梯度。以哺乳动物细胞为例, 可设定 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL。

- C. 第二天：替换旧的培养基，换用新鲜配制的含有相应浓度药物的培养基。每个浓度做三个平行孔。
- D. 接下来每 3-4 天更换新的含药物培养基。
- E. 按照固定的周期（如每 2 天）进行活细胞计数来确定阻止未转染细胞生长的恰当浓度。选择在理想的天数（通常是 7-10 天）内能够杀死绝大多数细胞的最低浓度为稳定转染细胞筛选的工作浓度。

3. 稳定转染细胞的筛选

- A. 转染 48 小时后，用含有适当浓度的潮霉素 B 筛选培养基来传代细胞（直接传代或者稀释后传代）。
注意：细胞处于活跃分裂状态时抗生素的杀伤效果最好。则当细胞过于稠密，其效率会降低。为了得到较好的筛选效果，最好细胞密度不超过 25%。
- B. 每隔 3-4 天更换含有药物的筛选培养液。
- C. 筛选 7 天后观察并评估细胞克隆（集落）的形成情况。集落的形成可能还需要一周或者更多的时间，这取决于宿主细胞类型，转染，以及筛选效果。
- D. 挑取并转移 5-10 个抗性克隆于 35mm 细胞培养板，继续用含药物的筛选培养液维持培养 7 天。
- E. 之后进行稳定细胞株的维持培养。

LT020-010625

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。