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

V 1.0.0

Hygromycin B 潮霉素 B

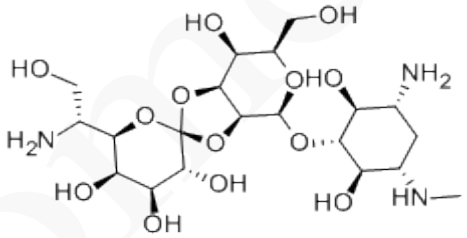
产品介绍：

Hygromycin B 潮霉素 B 是一种氨基糖苷类抗生素，可抑制原核微生物（如细菌）和真核微生物（如酵母菌，真菌）以及哺乳动物细胞的生长。通过干扰 70S 核糖体的转运来抑制蛋白质合成，并引起 mRNA 的误读。

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，将潮霉素 B 转化成不具有生物活性的磷酸化产物，从而起到解毒作用。针对这一原理，潮霉素 B 是一种非常有用的选择性标记，用来筛选和维持培养成功转染潮霉素抗性基因的原核或者真核细胞。 另外，由于作用模式的差异，常与 G418（Geneticin），Zeocin 和 Blasticidin S 联合使用进行双抗性阳性细胞株的选择。潮霉素 B 还能用作抗病毒剂，因其选择性渗透进入因病毒感染增强通透性的细胞，且具有抑制翻译的功效。还可混合入动物饲料中起到驱虫功能。

化学特性：

CAS: 31282-04-9
分子式: $C_{20}H_{37}N_3O_{13}$
分子量: 527.53
纯度: ≥92%（HPLC）
活力: ≥1000 U/mg
结构式:



产品信息：

产品编号	产品名称	规格
GM-040403-1	Hygromycin B 潮霉素 B	1 g
GM-040403-3	Hygromycin B 潮霉素 B	10 g

保存条件：

冰袋运输。-20℃干燥保存，有效期 2 年。

使用说明：

1. 储存液配制（50 mg/mL）

称取 0.5 g 潮霉素 B 加入 10 mL 1×PBS，PH 7.4，充分溶解后用 0.22 μm 滤器过滤除菌，分装成单次使用的小量（如 1 mL），-20℃避光保存，1 年稳定。

2. 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。

3. 杀灭曲线的建立

【注意事项】

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来实现，建议至少选择 5 个浓度。

1) 第一天：未转化的细胞按照 20-25%的细胞密度铺在合适的培养板上，37 ℃，CO_2 培养过夜。

【注】对于需要更高密度来检测活力的细胞，可增加接种量。

2) 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 0，50，100，200，400，800，1000 μg/mL。先用去离子水或者 PBS buffer 按照 1:10 的比例将母液稀释到 5 mg/mL，然后按照下表稀释到相应浓度的工作液。

终浓度（μg/mL）	培养基体积（mL）	5 mg/mL 潮霉素 B 加入体积（mL）
50	9.9	0.1
100	9.8	0.2
250	9.5	0.5
500	9.0	1.0
750	8.5	1.5
1000	8.0	2.0

3) 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。

4) 接下来每 3-4 天更换新的含药物培养基。

5) 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用的工作浓度。

4. 稳定转染细胞的筛选

1) 转染 48 h 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】细胞处于活跃分裂状态时抗生素的杀伤效果最好。当细胞过于稠密，其效率会降低。为了得到较好的筛选效果，最好将细胞稀释至丰度不超过 25%。

2) 每隔 3-4 天更换含有药物的筛选培养液。

3) 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。

4) 挑取并转移 5-10 个抗性克隆于 35 mm 细胞培养板，继续用含药物的筛选培养液维持培养 7 天。

5) 之后更换正常培养基培养即可。

注意事项：

1. 潮霉素 B 的抗性基因（hyg 或 hph）除了来自 E. Coli.之外，还发现于其他的菌株，包括 Streptomyces hygroscopicus 和 Klebsiella pneumoniae。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅作科研用途！

Genomeditech