

产品名称	目录号	产品规格	储存条件	保质期
潮霉素 B 溶液 (50 mg/mL)	SP00315-0010	10 mL	2-8°C, 避光	12 个月

## 潮霉素B溶液 (50 mg/mL)

### 产品说明书

#### 产品说明:

Hygromycin B(潮霉素B)是来源于吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)的一种氨基糖苷类抗生素, 对细菌, 真菌和哺乳动物细胞均有抑制作用和细胞毒性。

Hygromycin B(潮霉素B)通过干扰蛋白翻译过程中70S和80S核糖体易位, 诱导对mRNA模板的错误翻译而抑制细胞蛋白质的正常合成, 从而导致细胞死亡。

Hygromycin B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。推荐使用浓度为50~1000  $\mu\text{g/mL}$ 。实际应用中应针对不同的细胞系测试Hygromycin B的浓度梯度, 以确定最佳使用浓度。

#### 产品参数:

指标	参数
外观	Acceptable
效价测试	$\geq 900 \mu\text{g/mL}$

#### 注意:

本产品配制成溶液后请分装保存, 避免反复冻融造成产品失效。

本产品对人体有一定的毒害作用, 请注意适当防护, 以避免直接接触人体或吸入体内。

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。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明:

##### 1. 确认抗生素筛选浓度。

Hygromycin B用来筛选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适当调整, 推荐使用浓度为50-1000  $\mu\text{g/mL}$ 。对于第一次使用的实验体系建议通过建立杀灭曲线(kill curve), 即剂量效应曲线, 来确定最佳筛选浓度。



a. 接种细胞使得细胞密度约为25%，按照8、16或24个细胞培养孔(分别为单个培养孔、复孔和三个重复样)准备培养的细胞，培养24h。

b. 去除细胞培养液，换成含不同浓度Hygromycin B的新鲜筛选培养液(0, 50, 100, 200, 400, 600, 800和1000  $\mu$ g/ml)。

c. 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。

## 2. 筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。

a. 按照20%-30%的细胞密度接种细胞，培养过夜。

b. 转染携带Hygromycin B抗性基因的质粒或感染携带Hygromycin B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。说明：没有转染质粒或感染病毒的细胞，也需要同样进行转染质粒或感染病毒的相应实验操作。

c. 转染或感染48-72h后，换成含有最佳工作浓度的Hygromycin B (由步骤1中的杀灭曲线确定)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。

d. 每2-4天更换含有Hygromycin B的新鲜筛选培养液。

e. 对照组正常细胞100%死亡，Hygromycin B抗性组中存活的细胞即为表达Hygromycin B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。根据细胞种类和转染/筛选效率，单克隆细胞株的形成可能需要一周或更多的时间。

## 3. 稳定细胞株的维持培养。

可采取如下几种方式之一来维持培养稳定细胞株。

a. 使用含有与上述筛选稳定转染细胞株相同浓度的抗生素筛选培养液来维持培养。

b. 降低抗生素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抗生素浓度来维持培养(根据杀灭曲线来判断)。

**免责声明：**本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

