

## Hygromycin B (潮霉素 B)

产品货号	产品名称	规格	储存条件	保质期
IMC-606-10 mL	Hygromycin B (潮霉素 B)	10 mg/ mL *1 mL	-20℃	12 个月

### 产品简介

潮霉素 B 是一种由吸水链霉菌代谢产生的氨基糖苷类抗生素。潮霉素 B 通过干扰 70S 核糖体易位和诱导对 mRNA 模板的错读进而抑制蛋白质的合成，杀死原核（细菌）、真核（例如酵母菌，真菌）和高等哺乳动物真核细胞。

大肠杆菌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 是一种非常有用的抗性选择标记，可用来筛选和维持培养成功转染潮霉素抗性基因的原核或真核细胞。另外，由于作用模式的差异，常与 G418、Zeocin 或 Blasticidin S 联合使用进行双抗性阳性细胞株的选择。此外，潮霉素 B 还能用作抗病毒剂，或混合入动物饲料中起到驱虫功能。

本产品为无菌的潮霉素 B 溶液（50 mg/mL），可直接用培养液稀释使用。常用工作浓度为 200–500 μg/mL。对于第一次使用的实验体系，建议通过建立剂量反应曲线来确定最佳筛选浓度。

### 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

### 使用说明

#### 1. 潮霉素 B 剂量反应曲线的确定：

对于初次使用的细胞，一般需要通过实验来确定适合自身实验体系的剂量反应曲线 (dose-response curve or kill curve)。

(1) 第一天：24 孔板中以  $5 \sim 8 \times 10^4$  cells/孔的密度接种未转染细胞，接种足够量的孔以便进行后续的剂量梯度实验。细胞培养箱内培养过夜。

(2) 第二天：在培养过夜后的细胞中更换新鲜配制的筛选培养基，该筛选培养基为含不同浓度潮霉素 B 的新鲜培养基(如 0、50、100、250、500、750、1000  $\mu$ g/mL 等)，更换培养基后在细胞培养箱中继续培养。接下来每 3-4 天更换新的含抗生素培养基。

(3) 按照固定的周期进行活细胞计数来确定阻止未转染细胞生长的合适浓度，选择在 7-10 天能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。

## 2. 稳定转染细胞的筛选：

转染含有抗性基因的质粒或者感染含有该基因的病毒后，即可筛选稳定表达株。

(1) 细胞转染或感染 48 h 后，将细胞置于含有适当浓度潮霉素 B 的新鲜培养基中培养。

**注意：当细胞处于分裂活跃期时，抗生素作用最明显。细胞过于密集，抗生素产生的效力会明显下降，所以细胞的密度最好不超过 25%。建议同时做一个正常细胞的对照组。转染或感染 48 h 后，如果细胞过密也可以消化后重新接种细胞，培养过夜后即可进行潮霉素 B 筛选。**

(2) 每隔 3-4 天，更换含有抗生素的新鲜培养基。

(3) 筛选 7 天后，对照组正常细胞应该 100%死亡，转染组中存活的细胞为表达潮霉素 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。

(4) 挑选出的稳定抗性克隆继续用含药物的筛选培养基维持培养 7-10 天，之后更换正常培养基即可。

## 注意事项

1. 使用本产品时应注意无菌操作，避免污染；
2. 本产品为浓缩液，请根据需要稀释后使用；
3. 本产品可能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。
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。