

Hygromycin B 潮霉素 B

产品编号	产品名称	包装规格	储存条件
NHB0003-1G	Hygromycin B 潮霉素 B (冻干粉)	1g	-20°C干燥保存
NHB0003-5G	Hygromycin B 潮霉素 B (冻干粉)	5g	-20°C干燥保存
NHB0003-10G	Hygromycin B 潮霉素 B (冻干粉)	10g	-20°C干燥保存
NHB0003-20ML	Hygromycin B (50 mg/ml) 潮霉素 B (50 mg/ml)	20ml	2-8°C避光保存

产品简介:

潮霉素 B (Hygromycin B), 从吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus*) 分离到的一种氨基糖苷类抗生素。通过与 30S 核糖体亚基结合, 诱导对 mRNA 模板的错读且抑制易位, 从而以阻止蛋白合成。潮霉素 B 能杀死细菌、真菌和高等真核细胞。主要用来筛选和维持培养稳定转染 Hph 载体的原核细胞或真核细胞 (植物细胞和哺乳动物细胞)。

对潮霉素 B (Hygromycin B) 的抗性来源于大肠杆菌潮霉素抗性基因 (hph 或 hyg), 该基因能编码潮霉素磷酸转移酶 (hygromycin phosphotransferase), 使得潮霉素 B 发生磷酸化从而失去活性。目前 Hph 抗性基因主要有两种来源, 最初来源是大肠杆菌 (*Escherichia coli*), 另一来源是潮霉素 B 产生菌吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus*)。如今, 携带 Hph 抗性的载体大多来自大肠杆菌。

我司提供两种产品形式的潮霉素 B。

一种以冻干粉形式提供, 货号分别为: NHB0003-1G, NHB0003-5G, NHB0003-10G。需要配制成储存液后备用。一种以溶于 PBS 的无菌液体形式提供, 货号为 NHB0003-20ML, 使用更简单方便。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

产品特性:

1) 化学名:

O-6-Amino-6-deoxy-L-glycero-D-galacto-heptopyranosylidene-(1-2-3)-O- β -D-talopyranosyl(1-5)-2-deoxy-N³-methyl-D-streptamine

2) 同义名: Hygromycin B, from *Streptomyces hygrosopicus* 潮霉素质 B, 来源于吸水链霉菌

3) CAS NO: 31282-04-9

4) 分子式: C₂₀H₃₇N₃O₁₃

5) 分子量: 527.53g/mol

6) 外观: 类白色至白色粉末

7) 纯度: $\geq 90\%$ (HPLC)

8) 效价: ≥ 1050 U/mg

保存条件:

保存: 粉末-20°C干燥保存, 2 年有效。溶液 2-8°C 避光保存, 1 年有效。

运输: 冰袋运输。

使用方法:**1. 储存液制备**

1) 潮霉素质 B (粉末形式): 称取适量粉末溶于 1×PBS 配制成 50mg/ml 溶液, 用 0.22 μ m 滤膜过滤除菌, 置于 2-8°C 避光保存。

2) 潮霉素质 B (溶液形式): 已是无菌储存液, 直接用细胞培养液稀释到工作浓度即可使用。

2. 建议工作浓度

潮霉素质 B 用来筛选稳定转染细胞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。

- 1) 哺乳动物细胞使用浓度为 50-1000 $\mu\text{g/ml}$ ，常用筛选浓度为 200 $\mu\text{g/ml}$ ，最佳浓度需要杀灭曲线来确定。
- 2) 植物细胞常用浓度：20-200 $\mu\text{g/ml}$ ；
- 3) 细菌常用浓度：20-200 $\mu\text{g/ml}$ ；
- 4) 真菌常用浓度：200-1000 $\mu\text{g/ml}$ ；

3. 杀灭曲线的建立

建议初次实验一定要建立杀灭曲线 (kill curve)，至少设立 5 个浓度，筛选到适合自身实验体系的最佳浓度。

- 1) 将未转化细胞按照 20-25% 的细胞密度铺在合适的培养板上，铺足够的孔以保证后续的梯度实验。37°C 培养过夜；【注意】：对于需要更高密度以保证活力的细胞，增加接种量。
- 2) 第二日，用含梯度浓度潮霉素 B 的培养基替换旧培养基。比如，哺乳动物细胞常用浓度为 50-1000 $\mu\text{g/ml}$ ，可设 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 这 6 个浓度，各 3 个平行。同时设置一阴性对照，3 个平行。
- 3) 接下来每 3-4 日更换新鲜的含抗生素培养基。
- 4) 按照固定周期（如每 2 天）进行活细胞计数来确定阻止未转化细胞生长的恰当浓度。选择在理想天数（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所需的工作浓度。

4、稳转细胞的筛选

- 1) 转染 48h 后，用含最佳筛选浓度潮霉素 B 的培养基进行细胞传代。【注意】：细胞处于活跃分裂状态时抗生素的杀伤效果最好。当细胞密度过高，筛选效率会降低。为了得到较好的筛选效果，建议将细胞稀释至丰度不超过 25%。
- 2) 每 3-4 日更换新鲜的含抗生素培养基。
- 3) 筛选 7 天后观察并评估细胞集落的形成情况。集落的形成可能还需要一周或者更多的时

间，这些取决于宿主细胞类型，转染，以及筛选效果。

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

5) 之后换用正常培养基培养即可。

注意事项：

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。