

HyCyte® 潮霉素B, 50 mg/mL

HyCyte® Hygromycin B, 50 mg/mL

货号: GUAC-R002 规格: 1 mL / 1 mL×10

产品描述

潮霉素B (Hygromycin B) 一种氨基糖苷类抗生素, 是一种常用的抗性筛选试剂, 它可以通过干扰70S核糖体易位和诱导对mRNA模板的错读而抑制蛋白合成, 从而杀死细菌、真菌和高级真核细胞。而大肠杆菌来源的潮霉素抗性基因 (hyg或hph) 编码的潮霉素B磷酸转移酶, 可以将潮霉素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, 因此, 潮霉素B常用于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。由于作用模式的差异, 潮霉素B (Hygromycin B) 还常与G418、Zeocin或Blasticidin S联合使用进行双抗性阳性细胞株的选择。

产品信息

使用PBS溶液 (磷酸盐缓冲盐水) 作为溶剂, 产品浓度50 mg/mL。无菌。

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。一般而言, 哺乳动物细胞: 50~1000 $\mu\text{g/mL}$; 细菌/植物细胞: 20~200 $\mu\text{g/mL}$; 真菌: 300~1000 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.1 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来实现, 建议至少选择 5 个浓度。具体操作步骤可参考:

- 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, 培养箱培养过夜。
注: 对于需要更高密度来检测活力的细胞, 可增加接种量。
- 2) 第二天: 去除细胞培养液, 根据细胞类型, 设定浓度梯度, 换成含不同浓度Hygromycin B的新鲜筛选培养液。
以哺乳动物细胞为例, 可设立 50, 100, 200, 400, 600, 800和1000 $\mu\text{g/mL}$ 。
- 3) 每2~4天更换新的含药物培养基, 观察存活细胞的比例, 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。

2. 筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。

- 1) 转染携带Hygromycin B抗性基因的质粒或转导携带Hygromycin B抗性基因的病毒, 同时设置没有转染质粒或转导病毒的细胞作为对照。
- 2) 转染或转导48~72h后, 换成含有最佳工作浓度的Hygromycin B (由杀灭曲线确定) 的新鲜培养液, 继续培养。如果有必要, 可以对细胞进行传代后进行筛选培养。
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, 最好将细胞传代稀释至汇合度不超过25%。

为科研加速, 为工业赋能!



关注海星公众号



关注海星视频号



- 3) 每2~4天更换含有Hygromycin B的新鲜筛选培养液。
- 4) 当对照组细胞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。

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。

- 1) 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。
- 2) 降低抗生素浓度为筛选浓度的一半进行维持培养。
- 3) 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)。

| 保存条件

产品室温运输，保存条件为2~8℃，避光保存。

产品保质期为 24 个月，请于保质期内使用。

| 注意事项

1. 本产品经 0.1μm 过滤除菌；
2. 使用本产品时应注意无菌操作，避免污染；
3. 本产品仅用于科研或进一步研究使用，不用于诊断和治疗。

为科研加速，为工业赋能！



关注海星公众号



关注海星视频号

