

潮霉素 B 溶液(100mg/mL, 无菌)使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-8319	Hygromycin B Solution (100 mg/mL, Sterile)	5/10mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4℃ 保存，有效期 12 个月

【概述】

潮霉素 B (Hygromycin B) 是一种氨基糖苷类抗生素，通过干扰 80S 核糖体易位并诱导翻译错读来抑制蛋白质合成。

- **应用范围：** 广泛用于细菌、真菌、植物及哺乳动物细胞的选择培养。
- **筛选原理：** 实验室主要利用其筛选和维持表达 hph (或称 aph4) 基因（源自大肠杆菌）的转化子或转染细胞。
- **产品特点：** 本品为 100 mg/mL 的无菌水溶液，可直接加入培养基使用。

【操作方法】

1. 常用筛选浓度参考

潮霉素 B 的最佳工作浓度随细胞类型、培养基组分及代谢速率而异，建议参考下表：

宿主类型	建议浓度范围 (µg/mL)
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

2. 杀灭曲线的建立

为确定能够杀死 100% 未转染宿主细胞的最低浓度，必须建立剂量反应曲线：

- 1) **接种：** 第一天，将未转化的细胞按 20%-25% 的密度接种于培养板（如 6 孔板），过夜培养使细胞贴壁。
- 2) **设定浓度：** 准备 5-7 个浓度梯度。可先用 PBS 将 100 mg/mL 母液稀释至 5 mg/mL 中间液，再按需加入培养基。
- 3) **加药：** 第二天，更换为含梯度浓度药物的新鲜培养基。每个浓度设置 3 个平行孔。
- 4) **观察：** 每 3-4 天更换含药培养基，持续观察 7-14 天。

5) **确定参数:** 选择在 7-10 天内使细胞完全死亡的最低药物浓度作为后续筛选浓度。

3. 稳定转染细胞的筛选

1) **转染后处理:** 转染 24-48 小时后, 按比例传代细胞 (丰度不宜超过 25%, 活跃分裂的细胞对抗生素最敏感)。

2) **维持筛选:** 使用确定的工作浓度进行筛选, 每 3 天更换一次含药培养基。

3) **克隆评估:** 筛选 7-14 天后, 观察抗性克隆 (集落) 的形成。

4) **扩增:** 继续用含药培养液维持培养一周, 待细胞长满后进行后续检测。对于需单克隆挑选要求的则挑取 5-10 个 (或更多) 克隆转移至新的培养孔板中扩增培养进行后续检测,

【注意事项】

1. **稳定性:** 潮霉素 B 对 pH 敏感。在酸性或强碱性环境下易失活。请确保培养基 pH 稳定在 7.2-7.4。

2. **细胞密度:** 筛选时细胞密度过高 (> 80%) 会显著降低筛选效率, 建议保持细胞处于低密度、高分裂状态。

3. **安全防护:** 潮霉素 B 会引起过敏或呼吸道刺激。操作时请严格穿戴实验服、一次性手套和口罩。若不慎接触, 请立即用大量清水冲洗。

4. **科研用途:** 仅限科研使用, 严禁用于临床医疗、食品或动物用药。