

产品名称 & 产品编号

产品名称: Hygromycin B in PBS buffer

【31282-04-9】

产品编号: H005

产品性质

分子式: $C_{20}H_{37}N_3O_{13}$

分子量: 527.52

外观: 无色透明至浅黄色溶液(Hygromycin B in PBS buffer)

效价: 1150ug/mg

纯度: 92.20%

有毒/有害。可能致癌/致畸。

产品描述

潮霉素 B 是由吸水链霉菌 (Streptomyces hygroscopicus) 产生的氨基糖苷类抗生素, 用于筛选或稳定含有潮霉素抗性基因 (hph) 的原核和真核细胞。潮霉素 B 能够通过抑制蛋白质的合成杀死细菌, 真菌和高等真核细胞。

抗性基因编码激酶, 通过磷酸化使潮霉素 B 失活。克隆抗性基因并与真核启动子融合, 能够在原核和真核细胞中构建抗潮霉素 B 的载体, 过滤除菌。

工作浓度:

哺乳动物细胞: 50-1000ug/mL

植物细胞: 20-200ug/mL;

细菌: 20-200ug/mL;

真菌: 200-1000ug/mL

产品使用(仅作参考, 因检测体系而异)

使用一: 杀灭曲线确定最佳杀死浓度

(1) 往组织培养级的 96 孔板内加入未转染细胞, 细胞密度约 50-200 细胞/孔; 细胞贴壁之后, 往每孔加入含不同浓度(如 50-1000ug/mL, 至少 5 个浓度)潮霉素 B 的 200uL 新鲜培养基;

(2) 37°C, 5% CO₂ 培养箱孵育细胞 10-14 天;

(3) 培养 5-7 天后更换新的培养液, 培养液内含有相应浓度的潮霉素 B;

(4) 10-14 天后使用细胞增殖方法如 MTT, CCK-8 等评估细胞活力; 也可以通过检测细胞克隆数或百分比汇合率来确定毒性效应。一般选择在 10-14 天能够杀死所有细胞的最小浓度为最佳筛选浓度。

使用二: 筛选稳定转染细胞

(1) 对于贴壁细胞, 直接吸去 60mm 培养皿内的转染细胞培养基, 然后加入含有潮霉素 B 的新鲜培养基 5-6ml; 对于悬浮细胞, 无菌条件 250x g, 离心 10min 除去旧的转染细胞培养基, 然后悬浮在约 5ml 的含潮霉素 B 的新鲜培养基;

(2) 5-7 天后, 如上方法更换含有潮霉素 B 的新鲜培养基;

(3) 再孵育细胞 5-7 天;

(4) 10-14 天孵育后, 培养体系中只含有能够表达潮霉素 B 抗性表型的活细胞。因此筛选之后如步骤一, 更换不含潮霉素 B 的新鲜培养基。

储存条件

4°C 储存