

ABC[®] 潮霉素 B (50 mg/mL)

目录号: ABC4038

产品信息

产品名称	产品编号	规格
潮霉素 B (50 mg/mL)	ABC4038-1ML	1 mL

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, 可用于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 联合使用进行双抗性阳性细胞株的选择。

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 $\mu\text{g/mL}$ 。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。

储存与运输

冰袋运输, 2-8°C 保存。有效期 24 个月。

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 $\mu\text{g/mL}$ 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用的工作浓度。

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。

本产品仅供科研用途, 不用于临床诊断!