

G418 溶液

产品说明书

一、产品信息

目录号	产品名称	规格
SP00314-0020	G418 溶液	20 mL

二、产品描述

G418 溶液通过抑制转座子 Tn601, Tn5 的基因,干扰核糖体功能而阻断蛋白质合成, 对原核和真核等细胞产生毒素, 包括细菌、酵母、植物和哺乳动物细胞, 也包括原生动物和蠕虫。当 neo 基因被整合进真核细胞 DNA 后,则能启动 neo 基因编码的序列转录为 mRNA, 从而获得抗性产物氨基糖苷磷酸转移酶的高效表达, 使细胞获得抗性而能在含有 G418 的选择性培养基中生长。

三、试剂指南

G418 溶液: 储存条件为 -20°C, 有效期/保质期为 24 个月。

四、操作流程

1. 确认抗生素筛选浓度

通常刚开始筛选转化子需要高浓度的 G418, 并用一个较低浓度的 G418 用于维持培养。生长条件, 细胞类型和其他的环境因素都可能影响 G418 的用量, 因此第一次使用的实验体系建议通过杀灭曲线 (kill curve), 即剂量反应性曲线, 来确定最佳筛选浓度。通常情况, 哺乳动物细胞筛选范围 200-2000 $\mu\text{g/mL}$; 植物细胞: 10-100 $\mu\text{g/mL}$; 酵母细胞: 500-1000 $\mu\text{g/mL}$ 。



2. 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，至少选择 6 个浓度。处理分裂期的细胞时 G418 的活性最强，因此在添加 G418 之前需要让细胞培养一段时间。

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。 NOTE：对于需要更高密度来检测活力的细胞，可增加接种量。

2) 根据细胞类型，设定合适范围内的浓度梯度。以哺乳动物细胞为例，可设定 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 。

3) 第二天：去除旧的培养基，换用新鲜配制的含有相应浓度药物的培养基。每个浓度做三个平行孔。

4) 每 3~4 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的工作浓度。

3. 筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。

1) 转染携带 G418 抗性基因的质粒或转导携带 G418 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 48~72 h 后，换成含有最佳工作浓度的 G418（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。

NOTE：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%。

3) 每 3~4 天更换含有 G418 的新鲜筛选培养液。

验目的进行多克隆或单克隆细胞的筛选。



4. 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)。

五、附加说明

产品参数

指标	参数
效力	40.0 - 60.0 mg/mL
无菌	Negative

注意

本产品经 0.22 μm 过滤除菌；

使用本产品时应注意无菌操作，避免污染；

本产品仅用于科研或进一步研究使用，不用于诊断和治疗。

六、免责声明与客户服务

本产品应按照产品说明书所载明的适用范围、操作方法及储存条件使用。由于不同实验体系、样本来源及操作条件可能存在差异，用户在使用前应结合自身实验目的对产品适用性进行评估与验证。对于未按说明书要求使用、超出产品适用范围使用，或因操作条件变更而导致的实验结果差异或相关影响，本公司不承担相应责任。如需技术支持或更多产品信息，请联系 SPERIKON。

