

G418 溶液(geneticin,20mg/ml)

产品简介

新霉素(geneticin, G418)又称遗传霉素,是一种氨基糖苷类抗生素,是最常用的细胞稳定转染抗性筛选试剂。G418 能阻断蛋白质合成,对细菌、酵母、高等植物以及哺乳动物细胞均具有氨基糖苷类毒性,用于真核细胞从转座子 Tn5 和 Tn601 稳定转染新霉素(neo)抗性基因的选择和维持,经常用于基因转移、基因敲除、抗性筛选以及转基因动物等方面。

G418 Solution 经过滤除菌,一般工作浓度为 50~1000ug/ml 不等,不同类型的细胞需要根据实验确定最佳浓度,在具有相对稳定基因组的细胞(如 CHO 细胞)中,一旦筛选出稳定细胞株后,无需加入 G418 即可继续培养。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称	编号		
	ADS001A1	ADS001A0	Storage
G418 Solution(20mg/ml)	1ml	10ml	-20°C
使用说明书	1 份		

操作步骤(仅供参考)

- 1、由于每种细胞对 G418 的敏感性不同,而且不同批次 G418 的活性也不尽相同,所以在筛选之前,需要确定 G418 的最佳筛选浓度,一般在 50~1000 μ g/ml 范围内进行筛选。
- 2、将细胞制备成细胞悬液,并稀释到 1000 个/ml。
- 3、加入不同量的 G418 Solution (20mg/ml),选择在 10~14 天内使细胞全部死亡的最低 G418 浓度来进行下一步的筛选试验。

注意事项

- 1、尽量减少反复冻融的次数,以免失效。
- 2、基因转染到细胞内后,需要一段时间才能表达出蛋白质,所以筛选不宜太早。
- 3、筛选也不宜太迟,一般要在转染 24h 之后才开始加 G418 筛选,因为转染了外源基因的细胞代谢负荷较大,增值较慢,时间长了就会被没有外源基因转入的细胞所淹没,最终导致筛选不出阳性克隆。
- 4、随着细胞代谢,G418 的浓度和活性都会下降,应每 3~5 天更换一次含有 G418 的筛选液,这时药物浓度可以降至 200 μ g/ml。

- 5、加药筛选约 5~7 天左右，细胞会大量死亡，为了减少死亡细胞对阳性克隆的不利影响以及增加阳性克隆的获得率，可以应用套环法或刮除法结合有限稀释法来筛选阳性克隆，加药后在高倍镜下，刮除阴性克隆，消化阳性克隆后继续筛选培养或者用套环套住阳性克隆，在套环内加胰蛋白酶消化，把消化液吸到另外一个新的孔中培养，最后再用有限稀释法把阳性克隆在 96 孔板中筛选。
- 6、一般经过 4 周左右的筛选，得到的阳性克隆都比较稳定，但是外源基因如果没有整合到基因组中的话，目的基因还是很容易丢失的，再次筛选往往是必不可少的，经过 2 次以上的筛选之后才能找到遗传稳定的细胞克隆。
- 7、注意无菌操作，尽量避免污染。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月。低温运输，-20℃保存。