

G-418 硫酸盐

货号: BN20416

英文名称: G418 sulfate

别名: G-418 硫酸盐; 抗菌素 G-418; 抗生素 G-418;

CAS: 108321-42-2

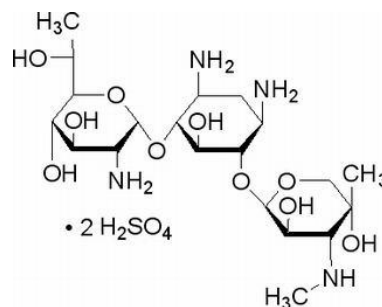
分子式: $C_{20}H_{40}N_4O_{10} \cdot 2H_2SO_4$

分子量: 692.71

外观: 白色粉末

溶解性: 1 mg/mL in water

保存条件: 2-8°C, 有效期 2 年。



产品说明:

本产品仅用于科研, 不可用于其他。

Geneticin (G418 Sulfate) 是一种氨基糖苷类抗生素, 与 gentamicin B1 的结构相似, 是 80 S ribosomes 延伸的抑制剂, 在原核和真核细胞的蛋白质合成过程中, 能够阻止蛋白质的延伸阶段, 从而抑制蛋白质的合成。

使用方法: (仅供参考)

1、常用筛选浓度

一般来说, 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 μ g/mL; 植物细胞: 10-100 μ g/mL; 酵母细胞: 500-1000 μ g/mL; 以下是一些细胞类型使用 G418 筛选使用的浓度, 可做参考:

细胞类型	激活浓度	应用
网柄菌属	a) 10 μ g/mL b) 30 μ g/mL	a) 培养在培养液中 b) 培养在冻干细菌上
哺乳动物	a) 400 -1000 μ g/mL b) 200 μ g/mL	a) 用于筛选 b) 用于维持生长
植物	a) 25-50 μ g/mL b) 10 μ g/mL	a) 用于筛选 b) 用于维持生长
酵母	a) 500 μ g/mL b) 125-200 μ g/mL	a) 用于筛选 b) 用于维持生长
细菌	8-16 μ g/mL	用于筛选

3. 杀灭曲线的建立

【注】: 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 (剂量反应曲线) 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，37°C，CO₂ 培养过夜。

【注】：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 µg/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) 接下来每 3-4 天更换新的含药物培养基。

5) 按照固定的周期（如每 2 天）进行活细胞计数来确定阻止未转染细胞生长的恰当浓度。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。

4. 稳定转染细胞的筛选

1) 转染 48 h 后，用含有适当浓度的 G418 筛选培养基来传代细胞（直接传代或者稀释后传代）。

【注】：细胞处于活跃分裂状态时抗生素的杀伤效果最好。则当细胞过于稠密，其效率会降低。为了得到较好的筛选效果，最好将细胞稀释至丰度不超过 25%。

2) 每隔 3-4 天更换含有药物的筛选培养液。

3) 筛选 7 天后观察并评估细胞克隆（集落）的形成情况。集落的形成可能还需要一周或者更多的时间，这取决于宿主细胞类型，转染，以及筛选效果。

4) 挑取并转移 5-10 个抗性克隆于 35 mm 细胞培养板，继续用含药物的筛选培养液维持培养 7 天。

5) 之后更换正常培养基培养即可。

注意事项：

1. 本品不可高压灭菌。

2. G418 不要和其他的抗生素/抗真菌剂（如青霉素/链霉素）共同使用，因为它们是 G418 的竞争性抑制剂。其他的抗生素也会产生交叉活性。

3. G418 加入培养体系中未转染的细胞有可能不会被杀死，原因在于药物浓度过低，或者细胞密度过高。另外，快速分裂的细胞相对于缓慢增殖细胞，更容易被杀死。对照细胞（未转染）可能抗生素添加 5-7 天后才能杀死，转染细胞（抗性克隆子）的克隆需要 10-14 天形成。

4. 即使加入杀死剂量的 G418，细胞可能会继续分裂 2-3 次。G418 的药效通常在 2 天后才变得明显。

5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。