

## G418 溶液(geneticin,50mg/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。

Leagene 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 | CA0003 | Storage |
|------------------------|----|--------|---------|
|                        |    |        |         |
| G418 Solution(50mg/ml) |    | 1ml    | -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 $\mu$ 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 (50mg/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 $\mu$ 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 个月有效。低温运输，-20℃保存。

**相关产品：**

| 产品编号   | 产品名称                                 |
|--------|--------------------------------------|
| CA0012 | 潮霉素 B 溶液(Hygromycin B,50mg/ml)       |
| CA0045 | 硫酸卡那霉素溶液(Kanamycin,10mg/ml)          |
| CA0055 | 硫酸庆大霉素溶液(Gentamycin Sulfate,50mg/ml) |
| CA0075 | 青霉素-链霉素混合溶液(100×双抗)                  |
| CC0007 | 磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)                  |
| DC0032 | Masson 三色染色液                         |
| DG0005 | 糖原 PAS 染色液                           |
| PS0013 | RIPA 裂解液(强)                          |