G-418硫酸盐

基本信息

英文名称:G-418 sulfate
中文别名:G-418 遗传霉素硫酸盐
分子式:$CH_4N_4O_{10}·2H_2SO_4$
分子量:692.7
粉末纯度:>730 μg/mg
外观(性状):白色粉末
溶解性:1 mg/mL in water，可溶于水、甲醇、缓冲液和培养基

制品内容

货号	名称	规格
QM5411-250mg	G-418 Sulfate (Geneticin)	250 mg
QM5411-500mg	G-418 Sulfate (Geneticin)	500 mg
QM5411-1g	G-418 Sulfate (Geneticin)	1 g
QM5411-5g	G-418 Sulfate (Geneticin)	5 g
QM5411-100g	G-418 Sulfate (Geneticin)	100 g

产品简介

G418 Sulfate（G418 硫酸盐），也称作 Geneticin（遗传霉素），是一种结构类似于庆大霉素 B1（Gentamycin B1）的氨基 糖苷类抗生素，通过影响 80S 核糖体功能和阻断延伸步骤来干扰蛋白合成，对原核和真核等细胞都有毒性 ,包括细菌、酵母、 高等植物和哺乳动物细胞 ,也包括原生动物和蠕虫。其抗性基因（主要为 neo 基因）位于转座子 Tn601（903）或 Tn5（来源 于细菌），但是可以在真核细胞中表达。通过基因重组技术将这些抗性基因导入细胞，使其获得对 G418 的耐药性，从而用 来筛选和维持培养携带抗性基因的原核或者真核细胞。 哺乳动物细胞中，当抗性基因 neo 被整合进真核细胞基因组后，使其编码表达氨基糖苷磷酸转移酶（amino-glycoside 3′ - phosphotransferase，APH(3')II）。此酶通过共价修饰 G418 的氨基或羟基功能，抑制抗生素-核糖体间的相互作用，从而使得抗生素失活。这一特性赋予细胞产生抗性。稳转细胞株筛选实验，需要建立杀灭曲线（剂量反应曲线）确定杀死无抗性细胞 的最低有效浓度。 植物细胞中，通过转染携带 nptII 基因的抗性质粒孵育其抗性。nptII 基因也能编码表达氨基糖苷磷酸转移酶，这个酶使 得多种抗生素丧失活性，包括 G418，卡那霉素和巴龙霉素

保存

常温运输。-20℃避光保存，有效期三年。

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) 配制 G418 溶液时，一定要根据 G418 批次不同的活力值（potency）来进行换算，从而得到需要活性浓度的储存液以及工作液

江西其云生物有限公司
Jiangxi qiyun Biotech Co., Ltd
www.qiyunbio.com
400-886-5210

4) 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。

5) 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。

6) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作

使用说明

1.G418 储存液的配制（50 mg/mL，活性浓度）

1）活力单位的换算 根据此公式进行换算：（1000/A0）×A1=A2，其中 A0 是 G418 的活力值（Potency），因批次而异。可见批次对应的质检报告， 或者瓶子上的标签。A1 是想配制的活性 G418 浓度。A2 是实际称重的粉末与体积比浓度比如若所用批次的 G418活力值为：750 U/mg，要配制 50 mg/mL 的 G418 活性浓度，则实际要配制的粉末浓度为 1000/750×50 mg/mL=66.33 mg/mL。如果配制 10 mL 的 G418 储存液（活性浓度，50 mg/mL），则需要称取 663.3 mg 粉末。

2）除菌和保存 根据上述换算得到的实际粉末称重量，加入 10 mL 无菌去离子水内使其完全溶解。 先用 5 mL 无菌去离子水预湿润 0.22 μm 针头式过滤器，除尽水。之后使用此滤器过滤，除菌后分装成单次使用的小量（如 1mL）放到-20℃冻存，1 年稳定。【注】①不要对混浊的溶液进行过滤，因为混浊的溶液意味着未完全溶解，过滤过程中会造成药物损失降低终液的活性。 ②不建议使用液体培养基，NaCl，磷酸盐溶液或者有机溶剂来制备储存液。

2. 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 μg/mL；植物细胞：10-100 μg/mL；酵母细胞：500-1000 μg/mL；

不同细胞类型使用 G418 筛选使用的浓度

细胞类型	激活浓度（μg/mL）	应用
网炳菌属	10	培养液培养
	30	冻干细菌培养
哺乳动物	400-1000	筛选
	200	维持生长
植物	25-50	筛选
	10	维持生长
酵母	500	筛选
	125-200	维持生长
细菌	8-16	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℃，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 筛选用的工作浓度 。

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。