



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenBR

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

## 遗传霉素/G418 (50mg/mL)

### 一、产品信息

产品编号	产品名称	产品规格
VGA-0021-0301	遗传霉素/G418 (50mg/mL)	1 mL

### 二、产品介绍

G418 也称作 Geneticin（遗传霉素），是一种氨基糖苷类抗生素，主要通过影响 80S 核糖体的功能来干扰蛋白质的合成，对细菌、酵母、高等植物、哺乳动物细胞等均有毒性。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。

本产品的 50 mg/mL 包装经过滤除菌，可以直接用于细胞培养。

**G418 使用浓度建议：**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  $\mu\text{g/mL}$ 。但最佳工作浓度需要通过剂量反应曲线来确定。

**保存条件：**-20  $^{\circ}\text{C}$ 保存，有效期 24 个月。

### 三、应用示例

#### 一、G418 剂量反应曲线的确定：

**【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 $^{\circ}\text{C}$ ，



www.vigenbio.com



Technical Support



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenBR

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

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  $\mu\text{g/mL}$ 。

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) 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。

## 二、稳定转染细胞的筛选：

(1) 细胞转染或感染 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】当细胞处于分裂活跃期时，抗生素作用最明显。细胞过于密集，抗生素产生的效力会明显下降，所以细胞的密度最好不超过 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。

## 四、注意事项

- 1、尽量减少反复冻融的次数，以免效价降低。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3、本产品仅作科研用途！



www.vigenbio.com



Technical Support