

G418溶液 (geneticin, 20mg/ml)

产品货号: R21755

产品规格: 10ml/50ml

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。

产品组成:

产品名称	产品规格	保存条件
G418溶液 (geneticin, 20mg/ml)	10ml/50ml	-20℃, 避光

操作步骤:

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: 6个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com