Opt™G418 溶液

货号：SD0066

【产品描述】

G418 是一种氨基糖苷类抗生素，常用于分子遗传试验中作为抗性筛选试剂。其筛选浓度取决于所使用的细胞类型，例如：

筛选哺乳动物细胞时，推荐起始筛选浓度为 400 微克/毫升。

筛选植物细胞时，推荐起始筛选浓度为 10 微克/毫升。

筛选酵母细胞时，推荐起始筛选浓度为 500 微克/毫升。

确定最佳筛选浓度通常通过杀灭曲线（kill curve）来确定，即通过逐步增加 G418 的浓度，观察细胞死亡的情况，找到能够杀死所有细胞的最小 G418 浓度。例如，在筛选 CHO 细胞时，推荐的 G418 浓度范围为 200-2000μg/ml。

【操作步骤】

在实际操作中，可能需要通过实验来确定具体的最佳筛选浓度，因为不同细胞类型和生长条件下，G418 的用量可能会有所不同。例如，在筛选 CHO 细胞时，推荐的 G418 浓度范围为 200-2000μg/ml，而筛选植物和酵母细胞的推荐浓度分别为 10-100μg/ml 和 500-1000μg/ml。

1.制备筛选培养基：确定 G418 的最佳筛选浓度需要考虑细胞类型、生长条件以及其他环境因素，并通过实验来确定具体的浓度范围，在细胞进行慢病毒感染前用不同浓度的 G418 培养细胞；

2.复苏细胞：将细胞传 2-3 代，待细胞生长稳定后，再传代，计数，大约2000 个/孔铺板于 24 孔培养板中；

3. 以哺乳动物细胞筛选为例：

1. 用培养基将 G418 溶液稀释为 0 ug/ml、400 ug/ml、500 ug/ml、600 ug/ml、700 ug/ml、800 ug/ml、900ug/ml、1000ug/ml、1100ug/ml、1200ug/ml24 孔板，每孔 1ml 培养基（含有 G418 的完全培养基），每个浓度3-4 个重复；

2. .12 小时后换液，将培养孔中培养基吸除，PBS 洗涤一次，每孔加入不同浓度筛选培养基，隔天更换一次筛选培养基，培养 10-14 天，以最低细胞全部死亡浓度为基准。

确定 G418 浓度后开始感染细胞：

3. 将需要感染的细胞铺 6 孔板（20 万/孔），第二天转染，6 小时后换新鲜正常培养基。转染 24 小时后加入最佳筛选浓度 G418 培养基，隔天换液；

4. 换液一两次后（换液后培养过夜），细胞达 50%-80%时，吸出所有培养液，离心 3000 -4000rpm，弃上清，加入 2 倍体积新鲜最佳筛选浓度培养液， 0.22um 过滤，混匀 4℃备用；

5. 培养 6 天左右细胞大量死亡时，可以换用适应性培养基，即 5 中所配制。或者可以增加血清浓度培养，例如原来用 10%血清，此时则可以采用 20%血清；

6. .培养 10 天后将 G418 浓度减半，维持筛选压力；

7. 筛选约 14 天后可见有抗性 xx 细胞出现，采用单克隆法或者刮除阴性克隆进行细胞的培养和扩增。

【产品规格】

25mg/支

【注意事项】

1.尽量减少反复冻融的次数，使用时避免对母液的污染。

2.注意无菌操作，尽量避免污染。

3.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

声明：产品仅科研使用。