

G418 硫酸盐；遗传霉素；G-418 disulfate, Geneticin

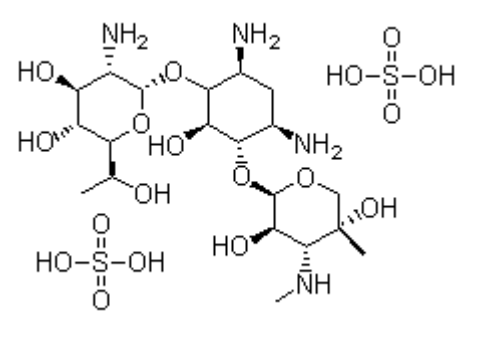
产品编号：MB1733

质量标准：>500U/mg, BR

包装规格：100MG；1 G；5 G；

产品形式：白色粉末

基本信息

分子式	C20H40N4O10.2(H2SO4)	结 构 式	
分子量	692.70		
CAS No.	108321-42-2		
储存条件	2-8℃，避光防潮密闭干燥		
溶解性 (25℃)	Water 50 mg/mL warmed DMSO Insoluble Ethanol Insoluble		
注意事项	溶解性是在室温下测定的，如果温度过低，可能会影响其溶解性。		
其他说明	为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。		

简介：遗传霉素硫酸盐 G-418 disulfate 是一种氨基糖苷类抗生素，与 gentamicin B1 的结构相似，在原核和真核细胞的蛋白质合成过程中，能够阻止蛋白质的延伸阶段，从而抑制蛋白质的合成。

别名：Geneticin sulfate; Antibiotic G-418 sulfate；D-Streptamine,

O-2-amino-2,7-dideoxy-D-glycero- α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-[3-deoxy-4-Cmethyl-3-(methethylamino)- β -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]-2-deoxy-, sulfate (1:2)

物理性状及指标：

外观：.....白色粉末

溶解性：.....Water 50 mg/mL warmed；DMSO Insoluble；Ethanol Insoluble

干燥失重：..... $\leq$ 8.0%

效价：.....>500U/mg,

储存条件：2-8℃，避光防潮密闭干燥

生物活性

产品描述	Geneticin (G418 Sulfate), 一种氨基糖苷类抗生素, 是 80 S ribosomes 延伸的抑制剂, 在原核和真核细胞中均能通过抑制延伸步骤来阻断多肽合成。
体外研究	G418 浓度为 1-300 microgram/ml 时, 抑制多种原核和真核生物。来自 Tn5 (编码氨基糖苷 3'-磷酸转移酶, APT 3' II) 的 neo 基因赋予 G418 抗性, 通常用在实验室研究中用于筛选基因工程细胞。一般作用于细菌和藻类的浓度为 5 mg/L 或更低, 筛选哺乳动物细胞的浓度为 400 mg/L, 维持哺乳动物细胞的浓度为 200 mg/L。筛选耐药株可能需要 1 周到长达 3 周。
体内研究	40 到 80 mg/kg 剂量的 G418 连续处理三天, 足以消除所有来自感染小鼠的未转染的 T.

	brucei brucei 寄生虫。
--	--------------------

美仑相关产品推荐 (美仑经典筛选抗生素系列)

MB2005	嘌呤霉素二盐酸盐	Puromycin dihydrochloride
MB6158	潮霉素 B	Hygromycin B
MB2506	Blasticidin(灭瘟素 S 盐酸盐)	Blasticidine S hydrochloride
MB3575	Zeocin 粉末	Zeocin powder
MB1733	G418 硫酸盐,遗传霉素	G-418 disulfate,Geneticin

用途及描述 :科研试剂,广泛应用于分子生物学,药理学等科研方面,严禁用于人体。Geneticin 硫酸(G418)是一种氨基糖苷类抗生素,抑制氨基酸形成蛋白质和破坏成纤维细胞。本品影响 80S 核糖体,抑制周期延长。进一步的研究表明,本品对变形虫,原生动物,绦虫具有高度活性。在使用带有 NeoR 筛选标记的载体 DNA 转染真核细胞时,向培养基加入 G418 可以杀死没有被转染的细胞,筛选出阳性转染细胞,建立稳定细胞系。G418 可以在 10 到 14 天时间内筛选出稳定细胞系。本品不能用于临床。

储液配置:

体 质 浓度 Water 量 积	1 mg	5 mg	10 mg
1 mM	1.4436 mL	7.2180 mL	14.4361 mL
5 mM	0.2887 mL	1.4436 mL	2.8872 mL
10 mM	0.1444 mL	0.7218 mL	1.4436 mL
50 mM	0.0289 mL	0.1444 mL	0.2887 mL

使用方法推荐 :请参考溶解度信息来选择合适的溶剂。仅供参考。

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 : $(1000/A_0) \times A_1 = A_2$, 其中 A_0 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。 A_1 是想配制的活性 G418 浓度。 A_2 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: 500 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 要配制 50 mg/mL 的 G418 活性浓度, 则实际要配制的粉末浓度为 $1000/500 \times 50 \text{ mg/mL} = 100 \text{ mg/mL}$ 。

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。之后使用此过滤器过滤, 除菌后分装成单次使用的小量放到 -20°C 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 植物细胞: 10-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 酵母细胞: 500-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 以下是一些细胞类型使用 G418 筛选使用的浓度, 可做参考。

细胞类型	激活浓度	应用
网柄菌属	a) 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	a) 培养在培养液中;
	b) 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$	b) 培养在冻干细菌上;

哺乳动物	a) 400 -1000 µg/mL b) 200 µg/mL	a) 用于筛选 b) 用于维持生长
植物	a) 25-50 µg/mL b) 10 µg/mL	a) 用于筛选 b) 用于维持生长
酵母	a) 500 µg/mL b) 125-200 µg/mL	a) 用于筛选 b) 用于维持生长
细菌	8-16 µg/mL	用于筛选

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°C, 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。

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。

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。

体外实验配制方法:

a) 先将使用到的所有器具去除内毒素和其它污染源,仪器表面、工作台面消毒。

b) 在分析天平上称取 G418 粉末 1.00 g,加 20 mL 无菌水溶液溶解。

c) 用专用的超滤滤膜过滤到去除内毒素的容器中,然后分装到 1.5 mL EP 管中。

d) 不建议使用螺旋盖管子,容易污染。-20 度保存,避光。

e) 为避免污染和失效, 建议分装成小规格的, 如 500 uL。

体内实验配制方法: 将生理盐水加入产品, 现配现用: 30 mg/mL

动物实验举例 (来自公开的文献, 美仑生物并不保证其有效性):

Animal Models: 血液中含 T. brucei brucei GUTat 3.1 和 T. brucei brucei GUTat 3.1/BBR3 的亚致死量辐射的小鼠

Formulation: 溶于无菌水

Dosages: 10, 20, 30, 40, 50, 或 80 mg/kg

Administration: 腹腔注射

【注意】

- 我司产品为非无菌包装, 若用于细胞培养, 请提前做预处理, 除去热原细菌, 否则会导致染菌。
- 部分产品我司仅能提供部分信息, 我司不保证所提供信息的权威性, 以上数据仅供参考交流研究之用。

参考文献

[1] Davies J, et al. Am J Trop Med Hyg, 1980, 29(5 Suppl), 1089-1092

[2] Li Y, et al. World J Gastroenterol, 2003, 9(10), 2174-2177.

[3] Murphy NB, et al. Antimicrob Agents Chemother, 1993, 37(5):1167-70.

活性化合物操作注意事项

1 产品分装：您收到货物后最好不要自己进行分包，因为分包环境、包装材料等因素可能导致分包后的产品变质；如您有特殊包装要求，请在订购时候与我们客服代表阐明，当然价格会做适当调整。对于开盖后，长期未使用的，请务必重新密封好，建议 Parafilm 封口膜，并按照相应储存条件使用。如果放置时间过长，超过产品有效期，建议您重新购买，以免影响实验质量。

2 储备液制备：大部分试剂的溶液形式稳定性较差，请优先采用现用现配的方式。如需制备储存液，请选用合适溶剂，细胞培养类多选择 DMSO，储备液制备完成后请于零下 80 摄氏度储存，一般可以稳定存在 3-6 个月以上。在使用前，再对储备液进行稀释。避免储备液反复冻融。

3 细胞培养工作液制备：请根据个人需要正确计算浓度，稀释储备液或者直接用粉末配置工作液。由于大部分化合物是脂溶性的，所以使用水性溶剂（如 PBS）稀释时，可能会析出沉淀，可通过超声使固体重新溶解，不会对实验产生影响。如用 DMSO 作为溶剂，请确保 DMSO 最终使用浓度 <0.3%，以避免细胞毒性。灭菌方式，我们建议通过 0.22UM 微膜过滤方式除菌，请勿采用紫外，射线或者高温灭菌方式，否则会影响化合物活性，甚至破坏其结构导致彻底失活。

4 体内动物实验应用：由于很多化合物是脂溶性的，动物实验工作液配制失活，可能会需要加入一些药用辅料作为助溶剂，如吐温，CMC-NA，甘油等，具体需要客户查阅相关文献决定。如使用 DMSO，请确保 DMSO 的终浓度 <5%，以避免毒性作用。给药剂量设计时候，可以参考下表

动物体表面积等效剂量换算表

物种	体重(KG)	体表面积(M2)	Km 系数
狒狒	12	0.6	20
狗	10	0.5	20
猴	3	0.24	12
兔	1.8	0.15	12
豚鼠	0.4	0.05	8
大鼠	0.15	0.025	6
仓鼠	0.08	0.02	5
小鼠	0.02	0.007	3

动物 A(mg/kg)=动物 B(mg/kg) X 动物 B 的 Km 系数/动物 A 的 Km 系数

5 关于产品到货处理及验收

您收到产品后，请及时查验产品的包装完整性，并对数量进行确认。对于很多微量的产品，数量低于 500MG 的，我们出厂前都是保证正确数量包装的。由于产品包装可能在运输过程中倒置，从而导致产品附着在管壁或者盖子上，这时候请不要先打开盖子，需正位放置轻轻拍打，使产品沉降到官底。对于液体产品，可以在 200 转左右稍作离心，官底收集液体，从而避免损失。

产品标签标示重量会有一定成了误差，在下面范围内均属于我司正常范围，望周知

标示重量范围	误差范围
1-20MG	0.1MG
50-500MG	1MG
>1G	3-5MG

为什么会看起来包装瓶是空的，如果您购买的产品的量非常小，同时有些产品在冻干的过程中粘附在管壁上形成薄薄的一层，可能观察不到产品的存在。您可以加入指定溶剂（参照操作手册）并涡旋或超声震荡使之完全溶解。

对于蜡状或油状的的产品很难取出称量它们的质量，我们建议您用合适的溶剂直接溶解该化合物；对于具有吸湿性的化合物，暴露在空气中会吸收水分，呈现液滴状，这种产品需要放置在干燥器中保存。