

嘌呤霉素

货号：P8231

规格：1ml/10*1ml/50ml

保存：-20℃保存，有效期 2 年。

产品参数：

CAS：58-58-2

英文名称：Puromycin

分子式：C₂₂H₂₉N₇O₅·2HCl

分子量：544.44

外观（性状）：液体

纯度：≥ 98%

产品说明：

嘌呤霉素（Puromycin）是由白黑链霉菌（*Streptomyces alboniger*）发酵代谢产生的一种氨基糖苷类抗生素，通过抑制蛋白质合成而杀死革兰氏阳性菌，各种动物和昆虫细胞。某种特殊情况下有效作用大肠杆菌。作用机制在于嘌呤霉素是氨酰-tRNA 分子 3'末端的类似物，能够与核糖体的 A 位点结合并掺入到延伸的肽链中。嘌呤霉素同 A 位点结合后，不会参与随后的任何反应，从而导致蛋白质合成的提前终止并释放出 C-末端含有嘌呤霉素的不成熟多肽。

嘌呤霉素产生菌 *Streptomyces alboniger* 内发现的 *pac* 基因编码嘌呤霉素 N-乙酰转移酶（PAC），赋予机体对嘌呤霉素产生抗性。这一特性如今普遍应用于筛选特定携带 *pac* 基因质粒的哺乳动物稳定转染细胞株。

嘌呤霉素在细胞稳转株筛选中的普遍应用与慢病毒载体的特性有关，现在商业化的慢病毒载体多数都携带 *pac* 基因。在某些特定情况下，嘌呤霉素亦可以用来筛选转化携带 *pac* 基因质粒的大肠杆菌菌株。

注：本产品经过无菌处理，可直接在无菌环境下使用。

使用方法

1. 建议使用浓度

哺乳动物细胞：1-10 μg/mL，最佳浓度需要杀灭曲线来确定；

大肠杆菌：LB 琼脂培养基筛选稳定转化 *pac* 基因的大肠杆菌，使用浓度为 125μg/mL。

注：使用嘌呤霉素筛选大肠杆菌稳转株需要精确的 pH 值调节，而且受宿主细胞本身的影响。

2. 嘌呤霉素杀灭曲线的确定（以 shRNA 转染或者慢病毒转导为例）

嘌呤霉素有效筛选浓度跟细胞类型、生长状态、细胞密度、细胞代谢情况及细胞所处细胞周期位置等有关。为了筛选到稳定表达的 shRNA 细胞株，确定杀死未转染/转导细胞的最低浓度嘌呤霉素至关重要。建议初次做实验的客户一定要建立适合自身实验体系的杀灭曲线（kill curve）。

1） Day 1：24 孔板内以 5~8×10⁴ cells/孔的密度铺板，铺足够量的孔以进行后续的梯度实验。37℃细胞孵育过夜；

2） Day 2：a）准备筛选培养基：含不同浓度嘌呤霉素的新鲜培养基（如 0-15μg/mL，至少 5 个梯度）；b）往孵育过夜后的细胞内更换新鲜配制的筛选培养基；之后 37℃孵育细胞；





3) Day 4: 更换新鲜的筛选培养基, 并观察细胞存活率。

4) 根据细胞的生长状态, 约 2-3 天更换新鲜的筛选培养基;

5) 每日监测细胞, 观察存活细胞率, 从而确定抗生素筛选开始 4-6 天内有效杀死非转染或者所有非转导细胞的药物最低浓度。

3. 哺乳动物稳定转染细胞株的筛选

等转染含有 pac 基因的质粒后, 细胞在含有嘌呤霉素的培养基中增殖, 以筛选出稳定转染子。

1) 细胞转染 48h 后, 将细胞 (原样或稀释) 置于含有适当浓度嘌呤霉素的新鲜培养基中培养。

注意: 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。最好进行细胞分盘使其密度不超过 25%。

2) 每隔 2-3 天, 移除和更换含有嘌呤霉素的培养基。

3) 筛选 7 天后评估细胞形成的病灶。病灶可能需要额外的一周或者更多时间, 这依赖于宿主细胞系和转染筛选效率。注意: 每日进行细胞生长状态的观察。嘌呤霉素的筛选至少需要 48h, 有效浓度嘌呤霉素的筛选周期一般在 3-10 天。

4) 转移和放置 5-10 个抗性克隆到一个 35mm 的培养皿中, 用选择培养基继续培养 7 天。此次富集培养是为日后的细胞毒性实验做准备。

注意事项:

1. 我司生产的生化试剂如无特殊标注, 基本为非无菌包装, 若用于细胞实验, 请提前做好预处理。

2. 一旦配成溶液, 请分装保存, 避免反复冻融造成的产品失效。

3. 产品信息仅供参考, 如有疑问请致电 400-968-6088 咨询。

4. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

5. 为了您的安全和健康, 请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。

