

## Puromycin Solution (10mg/ml)

### 嘌呤霉素溶液(10mg/ml)

产品编号	产品名称	规格
BL528A	嘌呤霉素溶液(10mg/ml)	1ml

CAS: 58-58-2

Formula: C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>·2HCl

MW: 544.43

#### 产品简介:

Puromycin 是来源于 *Streptomyces alboniger* 的一种氨基核苷类抗生素，中文名为嘌呤霉素，常用于筛选能够表达 *pac* 基因 (*puror*) 的细胞。*pac* 基因表达嘌呤霉素 N-乙酰转移酶 (Puromycin N-acetyl-transferase)，如果该基因表达，就会对嘌呤霉素产生抗性，这一特性目前普遍应用于筛选表达 *pac* 基因的哺乳动物稳定细胞株。目前，很多商业化的慢病毒载体都携带 *pac* 基因(一般在质粒图谱上标记为 *puror*)，可以利用嘌呤霉素的筛选，得到特定基因稳定表达的细胞株。嘌呤霉素也可以用来筛选表达 *pac* 基因的大肠杆菌菌株、酵母菌株等。Puromycin 不仅能用于稳定细胞株的筛选，也用于稳定细胞株的维持。Puromycin 的作用特点是快速作用于细胞，一般 2 天内可以杀死 99% 的不表达 *pac* 基因的细胞。

本产品浓度为 10mg/ml，已过滤除菌，可以直接用于细胞培养。

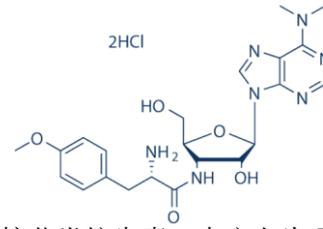
#### 使用说明:

##### 一、推荐工作浓度:

推荐的作用于哺乳动物细胞的嘌呤霉素浓度一般为 1-10 $\mu$ g/ml (表 1)，但最佳工作浓度需要通过剂量反应曲线来确定。

表 1、部分常见哺乳动物细胞的推荐工作浓度表

细胞名称	细胞类型	嘌呤霉素浓度
A549	Lung cancer	1-2 $\mu$ g/ml
B16	Mouse melanocytes	1-2 $\mu$ g/ml
ES cell	Human embryonic stem cells	0.5-5 $\mu$ g/ml
H1299	Non-small cell lung carcinoma	1-3 $\mu$ g/ml
HEK293	Human embryonic kidney	0.5-3 $\mu$ g/ml
HeLa	Human cervical cancer	1-2 $\mu$ g/ml
HepG2	Human hepatocellular carcinoma	0.5-2 $\mu$ g/ml
HT1080	Human fibrosarcoma	0.5-2 $\mu$ g/ml
MCF-7	Human breast cancer	0.5-2 $\mu$ g/ml
MDA-MB-231	Human breast cancer	0.5-5 $\mu$ g/ml
MEF	Mouse fibroblasts	1-5 $\mu$ g/ml



## 二、嘌呤霉素剂量反应曲线的确定(以 shRNA 转染或者慢病毒感染为例):

嘌呤霉素的有效筛选浓度与细胞类型、生长状态、细胞密度、细胞代谢及细胞所处细胞周期等因素相关。为了筛选到稳定表达的 shRNA 或感染病毒的细胞株，确定杀死未转染/感染细胞的最低浓度嘌呤霉素非常重要。对于初次使用的细胞，一般需要通过实验来确定适合自身实验体系的剂量反应曲线(dose-response curve or kill curve)。

1、第一天：24 孔板中以  $5\sim 8\times 10^4$  cells/孔的密度接种细胞，接种够量的孔以便进行后续的剂量梯度实验。细胞培养箱内培养过夜。

2、第二天：在培养过夜后的细胞中更换新鲜配制的筛选培养基，该筛选培养基为含不同浓度嘌呤霉素的新鲜培养基(如 0、1、2.5、5、7.5、10 $\mu$ g/ml 等)，更换培养基后在细胞培养箱中继续培养。

3、第三天：由于嘌呤霉素可以快速作用于细胞，一般 2 天内可以杀死 99% 的未表达 pac 基因的细胞，所以在加嘌呤霉素后的 1-2 天就可以进行观察细胞存活率，从而确定有效杀死正常细胞的药物最低浓度。如果细胞耐药性比较强，需要每日观察，一般 4-10 天内即可确定嘌呤霉素的最低浓度。

## 三、哺乳动物稳定表达细胞株的筛选:

转染含有 pac 基因的质粒或者感染含有该基因的病毒后，即可筛选稳定表达株。

1、细胞转染或感染 48 小时后，将细胞置于含有适当浓度嘌呤霉素的新鲜培养基中培养，此为处理组。

**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，所以细胞的密度最好不超过 25%。建议同时做一个正常细胞的对照组。转染或感染 48 小时后，如果细胞过密也可以消化后重新接种细胞，培养过夜后即可进行嘌呤霉素筛选。

2、每隔 2-3 天，更换含有嘌呤霉素的培养基。

3、筛选 7 天后，对照组正常细胞应该 100% 死亡，处理组中存活的细胞为表达 pac 基因的细胞。然后根据实验目的进行多克隆或单克隆细胞的筛选。

**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 24 小时，有效浓度嘌呤霉素的筛选周期一般在 2-10 天。

4、待细胞可以稳定生长后，嘌呤霉素的浓度可以减半用于后续的培养。在得到稳定表达细胞株后，一般建议嘌呤霉素也须持续加入，并 2-3 天更换含有嘌呤霉素的新鲜培养液。

### 注意事项:

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 保存条件:

-20 $^{\circ}$ C 保存，一年有效，尽量避免反复冻融。