

Puromycin Dihydrochloride

嘌呤霉素

产品编号	产品名称	规格
BS111-25mg	嘌呤霉素	25mg

产品简介:

嘌呤霉素是由白黑链霉菌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。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未成熟多肽。

别名：二盐酸嘌呤霉素；嘌呤霉素盐酸盐

CAS: 58-58-2

分子式: $C_{22}H_{29}N_7O_5 \cdot 2HCl$

分子量: 544.44

纯度: $\geq 98\%$

储存条件: $-20^{\circ}C$

外观: 白色粉末

单位: 瓶

有效期: 3 年

应用:

常用于筛选能够表达 pac 基因 (puror) 的细胞株，一般 2 天内可以杀死 99% 的不表达 pac 基因的细胞。

使用方法: (根据实际需要参阅相关文献配制和使用)

用蒸馏水溶解，参考浓度为 50mg/ml，过滤除菌后分装于 $-20^{\circ}C$ 冻存；也可溶于甲醇，配制成 10 mg/ml 的储存液。

筛选哺乳动物细胞的建议浓度为 1-10ug/ml，最佳工作浓度可根据剂量反应曲线确定。

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、在 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、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 μ g/ml 等)，更换培养基后在细胞培养箱中继续培养。

3、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。

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：

1、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

2、本产品为有毒化合物，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。