Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

V 1.0.0

Puromycin Dihydrochloride

嘌呤霉素盐酸盐

产品介绍：

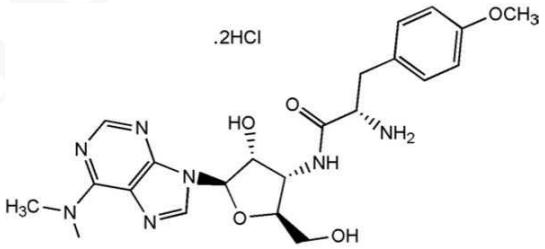
嘌呤霉素（Puromycin）是由白黑链霉菌（Streptomyces alboniger）发酵代谢产生的一种氨基糖苷类抗生素，通过抑制蛋白质合成而杀死革兰氏阳性菌，各种动物和昆虫细胞。某种特殊情况下有效作用大肠杆菌。作用机制在于嘌呤霉素是氨酰-tRNA 分子 3′末端的类似物，能够与核糖体的 A 位点结合并掺入到延伸的肽链中。嘌呤霉素同 A 位点结合后，不会参与随后的任何反应，从而导致蛋白质合成的提前终止并释放出 C-末端含有嘌呤霉素的不成熟多肽。

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。

化学特性：

CAS: 58-58-2
分子式: $C_{22}H_{29}N_7O_5 \cdot 2HCl$
分子量: 544.43
纯度: >95%（HPLC）
溶解度: 在纯水中，最大溶解度为 50 mg/mL
结构式:



产品信息：

产品编号	产品名称	规格
GM-040401-1	Puromycin dihydrochloride	25 mg
GM-040401-2	Puromycin dihydrochloride	100 mg
GM-040401-3	Puromycin dihydrochloride	250 mg
GM-040401-4	Puromycin dihydrochloride	500 mg
GM-040401-5	Puromycin dihydrochloride	1 g

注：本产品为粉末。

For research use only!

保存条件：

冰袋运输。-25~ -15℃干燥保存，有效期 2 年。

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 125 μg/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。溶解后使用 0.22 μm 过滤器进行过滤除菌。

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死曲线（kill curve）。

1） Day 1：24 孔板内以 5~8×10^4 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 2：①准备筛选培养基：含不同浓度嘌呤霉素的新鲜培养基（如 0-15 μg/mL，至少 5 个梯度）；②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 48 h 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】：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】：每日进行细胞生长状态的观察。嘌呤霉素的筛选至少需要 48 h，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 35 mm 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. 嘌呤霉素是一种有毒化合物，请小心拿放；
2. 嘌呤霉素对大肠杆菌有效性较低，但对哺乳动物细胞中的有效性则较强。在转染实验中，它可以替代新霉素系统。
3. 本产品仅用于科研用途，禁止用于人身上。

Genomeditech