

Puromycin Dihydrochloride 嘌呤霉素盐酸盐

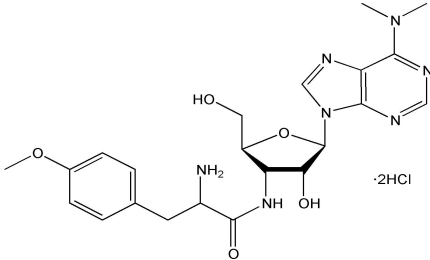
产品简介

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。

产品信息

货号	60210ES25/60210ES60/60210ES72/60210ES76/60210ES80
规格	25 mg/100 mg/250 mg/500 mg/1 g
CAS 号 (CAS NO.)	58-58-2
分子式 (Molecular Formula)	$C_{22}H_{29}N_7O_5 \cdot 2HCl$
分子量 (Molecular Weight)	544.43 g/mol
纯度 (Purity)	≥98%
外观 (Appearance)	白色至米白色粉末
结构 (Structure)	 <p>The image shows the chemical structure of Puromycin Dihydrochloride. It consists of a 4-methoxyphenyl group attached to a propanoic acid derivative, which is further linked to a ribose sugar. The ribose sugar is attached to a purine base (adenine) via its C5 position. The structure is shown as a dihydrochloride salt, indicated by the $\cdot 2HCl$ label.</p>

组分信息

组分名称	60210ES25	60210ES60	60210ES72	60210ES76	60210ES80
规格	25 mg	100 mg	250 mg	500 mg	1 g

储存条件

-25~-15°C保存, 有效期2年。

使用说明

1. 建议使用浓度

哺乳动物细胞: 1-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

【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. 溶解方法

用蒸馏水溶解嘌呤霉素配制成 50 mg/mL 的母液，经 0.22 μ m 滤膜过滤除菌后分装于-25~-15°C冻存；也可溶于甲醇，配制成 10 mg/mL 的储存液。

3. 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 \times 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°C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 μ g/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°C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。

4. 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. 嘌呤霉素为有毒化合物，操作时请小心拿放。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅用于科研用途，禁止用于人身上。