

Puromycin Dihydrochloride 嘌呤霉素盐酸盐

产品信息:

产品名称: Puromycin Dihydrochloride 嘌呤霉素盐酸盐

规格:

| 目录号 | 产品名称 | 规格 |
|--------|-----------------------------------|--------|
| X10020 | Puromycin Dihydrochloride 嘌呤霉素盐酸盐 | 25mg |
| X10021 | Puromycin Dihydrochloride 嘌呤霉素盐酸盐 | 100mg |
| X10022 | Puromycin Dihydrochloride 嘌呤霉素盐酸盐 | 500mg |
| X13050 | Puromycin (10mg/ml) 嘌呤霉素盐酸盐溶液 | 1ml |
| X13051 | Puromycin (10mg/ml) 嘌呤霉素盐酸盐溶液 | 5*1ml |
| X13052 | Puromycin (10mg/ml) 嘌呤霉素盐酸盐溶液 | 10*1ml |

产品说明:

| | |
|---------|---------------------------------|
| CAS 号 | 58-58-2 |
| 分子式 | $C_{22}H_{29}N_7O_5 \cdot 2HCl$ |
| 分子量 | 544.43 g/mol |
| 纯度 | > 98% |
| 溶液内毒素含量 | < 5 EU/mg |
| 外观 | 白色至米白色粉末 |
| 熔点 | 175-177°C |
| 溶解性 | 溶于水、DMSO、乙醇、PBS、PH7.2 |
| 运输 | 冰袋运输 |
| 保存 | -20°C干燥保存。有效期 4 年。 |

使用说明:

产品描述:

嘌呤霉素是由 *Streptomyces alboniger* 生产的氨基核苷类抗生素。它能特异性地抑制原核和真核糖体上的肽链转移。这种抗生素抑制革兰阳性细菌和各种动物和昆虫细胞的生长。嘌呤霉素在某些特定条件下也可用于大肠杆菌转化子的筛选。嘌呤霉素的抗性是由 puromycin N-acetyl-transferase 的 pac 基因赋予的。动物细胞一般对 1~10ug/ml 浓度敏感。

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 -20°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 $5\sim 8\times 10^4$ cells/孔的密度铺板，铺足够量的孔以进行后续的梯度实验。37°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。

本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。