

## 嘌呤霉素 Puromycin dihydrochloride (10mg/ml)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8833-1ml	嘌呤霉素 Puromycin dihydrochloride (10mg/ml)	1ml
NBS8833-5ml	嘌呤霉素 Puromycin dihydrochloride (10mg/ml)	5x1ml
NBS8833-10ml	嘌呤霉素 Puromycin dihydrochloride (10mg/ml)	10x1ml

### 产品简介:

嘌呤霉素 (Puromycin), 来源于白黑链霉菌 (*Streptomyces alboniger*) 代谢产物的一种氨基糖苷类抗生素, 有效抑制革兰氏阳性菌生长, 对抗酸杆菌的抑制活性相对较弱, 但对革兰氏阴性菌的抑制活性更弱。还能抑制原生生物、藻类、哺乳动物和昆虫细胞的生长, 一般 2 天内能杀死 99% 的细胞。作用机制在于: 嘌呤霉素是氨酰-tRNA 分子 3' 末端的结构类似物, 能够与核糖体的 A 位点结合并掺入到延伸肽链中, 导致肽链合成的永久终止, 进而阻止蛋白质合成。嘌呤霉素还具有抗肿瘤活性。作为蛋白合成抑制剂, 用来研究细胞分化中控制基因顺序表达和协同表达的转录调控机制。

对嘌呤霉素的抗性来自嘌呤霉素产生菌内发现的 *pac* 基因, 其表达产物嘌呤霉素 N-乙酰转移酶 (puromycin N-acetyl-transferase) 可通过乙酰化嘌呤霉素使其失活。这一特性使得嘌呤霉素常用来筛选和维持培养携带 *pac* 基因的哺乳动物细胞株, 特别是慢病毒感染的细胞株。现在商业化的慢病毒载体多数都携带 *pac* 基因。某些情况下, 也能用来筛选携带 *pac* 基因的大肠杆菌菌株。嘌呤霉素在 CRISPR/Cas9 基因编辑系统中也发挥重要作用。

本品为溶于水的嘌呤霉素盐酸盐溶液, 浓度为 10mg/ml, 经 0.2  $\mu$ m 滤膜过滤得到的无菌溶液, 直接用培养基稀释到工作浓度即可。真核细胞常用的筛选浓度为 1-10 $\mu$ g/ml。

### 产品特性

- 1) 化学名: 3'-[ $\alpha$ -Amino-p-methoxyhydrocinnamamido]-3'-deoxy-N,N-dimethyladenosine dihydrochloride
- 2) 同义名: Stylomycin hydrochloride; CL 13900 dihydrochloride; P638 dihydrochloride; CL16536; NSC 3055;
- 3) CAS NO: 58-58-2
- 4) 分子式: C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>·2HCl
- 5) 分子量: 544.43 g/mol
- 6) 外观: 无菌溶液
- 7) 纯度: > 98% (HPLC)

### 保存条件:

-20°C 干燥保存, 至少 1 年有效。

## 产品使用:

### 1、试剂准备

第一次收到本品, 可根据单次用量, 将嘌呤霉素 (10mg/ml) 无菌分装, 置于-20°C保存, 尽量减少反复冻融次数。

### 2、建议工作浓度

哺乳动物细胞: 1-10  $\mu\text{g/ml}$ , 最佳工作浓度使用宿主细胞杀灭实验 (杀灭曲线) 来确定;

大肠杆菌: LB 琼脂培养基筛选敏感转化菌株, 使用浓度为 100-125 $\mu\text{g/ml}$ 。

【注意】: 使用嘌呤霉素筛选大肠杆菌阳性转化子不仅需精确的 pH 值调节, 而且受宿主细胞本身状态影响。

### 3、杀灭曲线的建立

嘌呤霉素合适的筛选浓度与细胞类型、生长状态、细胞密度、代谢情况, 以及细胞所处周期等因素有关。为了筛选到稳定表达的细胞株, 确定杀死未转染或感染细胞所需的最低浓度嘌呤霉素至关重要。建议初次实验一定要建立杀灭曲线 (kill curve), 筛选到适合自身实验体系的最优筛选浓度。

1) 于 24 孔板加入 500 $\mu\text{l}$ /孔制备好的细胞悬液, 铺足够的孔以保证后续的梯度实验。37°C 细胞孵育过夜。理想情况开始抗生素筛选时, 细胞达到较高的密度 (~60-80%), 常用的细胞密度如下:

贴壁细胞: 0.8 - 3.0  $\times 10^5$  cells/ml

悬浮细胞: 2.5 - 5.0  $\times 10^5$  cells/ml

2) 准备筛选培养基: 含梯度浓度嘌呤霉素的新鲜培养基 (比如, 设置 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 $\mu\text{g/ml}$ , 这 11 个筛选浓度, 每个浓度 2 个复孔);

3) 将孵育过夜的细胞清洗后, 更换新鲜制备的梯度筛选培养基; 之后置于 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱内孵育;

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者所有非感染细胞的抗生素最低浓度, 也就是将用到的最优筛选浓度。

【注意】: 如果发现细胞开始变圆但没有从平板表面脱落可能是以下情况,

a) 变圆但是未脱落是细胞开始死亡的一个信号, 这些需要更长的筛选时间;

b) 若在建议浓度 1-10 $\mu\text{g/ml}$  范围内还不能完全处死细胞, 此时需要检测药物是否有效, 避免药物的反复冻融 (<5)。

## 注意事项:

1) 嘌呤霉素为有毒化合物, 操作时需注意防护, 切勿与身体或皮肤直接接触。

2) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!