

## 嘌呤霉素

有效期	4 年
溶解性	50 mg/mL in water
别名	二盐酸嘌呤霉素；嘌呤霉素盐酸盐
英文名称	Puromycin
分子式	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> N <sub>7</sub> O <sub>5</sub> • 2HCl
分子量	544.44
储存条件	-20℃
危险代码	R:22
纯度	PURITY: ≥99%
外观（性状）	白色粉末

### 说明：

蛋白质合成抑制剂。抑制细菌、藻类原生物和哺乳动物细胞生长。

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未成熟多肽。

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。

**溶解性：**溶于水，参考浓度 50mg/ml。

### 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；

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



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  $\mu$ g/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  $\mu$ m 滤膜过滤除菌后分装于-20℃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  $5 \times 10^4$  cells/孔的密度铺板，铺足够量的孔以进行后续的梯度实验。37℃细胞孵育过夜；
- 2) Day 2: a) 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  $\mu$ g/mL，至少 5 个梯度）；  
b) 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者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 48h 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。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 48h，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 35mm 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。

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

