



Puromycin 嘌呤霉素盐酸盐

产品描述

嘌呤霉素 (Puromycin, CAS: 58-58-2), 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 (Mode of action): 嘌呤霉素作为氨酰-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。抗性产生机制 (Mode of resistance): 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基因筛选, 用来筛选和维持培养携带 *pac* 基因质粒/载体的瞬转或稳转哺乳动物细胞株, 特别是慢病毒颗粒感染的细胞株; 也用在 CRISPR/Cas9 基因编辑系统中液发挥重要作用。

通常均为粉剂形式提供, FS0020R-1ml 为配制好的 10mg/ml 的水溶液经 0.22 μ m 滤膜过滤除菌形式提供。

产品组成

名称 / 编号	FS0020R	FS0020	FS0020	FS0020	Storage
Puromycin 嘌呤霉素盐酸盐	1ml(10mg/ml)	25mg	100mg	500mg	-20°C 干燥保存
使用说明书	1 份				

产品特性

化学名: 3'-[α -Amino-p-methoxyhydrocinnamido]-3'-deoxy-N,N-dimethyladenosinedihydrochloride

同义名: Stylomycin hydrochloride; CL 13900 dihydrochloride; P638 dihydrochloride; CL16536; NSC 3055;

CAS NO: 58-58-2

分子式: $C_{22}H_{29}N_7O_5 \cdot 2HCl$

分子量: 544.43 g/mol

外观: 白色至灰白色粉末

纯度: >98% (HPLC)

溶解性: 溶于水 (50mg/ml), 乙醇 (\sim 1mg/ml), DMSO (\sim 10mg/ml), PBS, pH 7.2 (\sim 10mg/ml)

储存条件: -20°C, 4 年有效。

使用方法

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。

常见筛选浓度:

哺乳动物细胞: 1-10 μ g/ml, 最佳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 μ g/ml。

联系电话: 400-998-5068 所有产品仅用作科学研究使用 网址: <http://www.fsbio-mall.com>

我司信息: Shanghai Fushen Biotech Co.,Ltd 或者简(FUSHENBIO,China),(FUSHENBIO,Shanghai,China)



以下是针对一些哺乳动物细胞的筛选浓度:

为了筛选到稳定表达待研究 shRNA 的细胞株, 确定杀死未转染/转导细胞的最低浓度嘌呤霉素至关重要。所以初次做实验的客户一定要建立适合自己体系的杀死曲线 (kill curve)。

- (1) 24 孔板内以 5×10^4 cells/孔的密度铺板, 铺足够量的孔以进行后续的梯度实验。细胞孵育过夜;
- (2) 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);
- (3) 细胞孵育过夜后加入筛选培养基, 孵育细胞;
- (4) 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比例。嘌呤霉素的最佳作用时间一般在 1-4 天之间。
- (6) 最小的抗生素使用浓度就是指从抗生素筛选开始 1-4 天内杀死所用细胞的最低筛选浓度。

► 嘌呤霉素筛选稳定转染细胞

- (1) day 0: 24 孔板内以 5×10^4 cells/孔的密度铺板, 孵育过夜;
- (2) 制备筛选培养基: 含有最佳筛选浓度嘌呤霉素 (由杀灭曲线确定) 的新鲜培养基;
- (3) day 1: 筛选第一天, 去除旧的培养基, 加入一定量 MOI 的病毒颗粒; (加入无血清培养基的总量必须充分覆盖住细胞。)
- (4) 病毒转导后约 6-8h, 再添加 1ml 完全培养基 (血清和双抗, 如果已经使用双抗。) 到细胞内, 然后孵育过夜;
- (5) 病毒转导后 48h, 使用嘌呤霉素筛选培养基替换旧的完全培养基。孵育。
- (6) 约每 2-3 天替换新鲜配制的筛选培养基;
- (7) 每天检测细胞并观察活细胞生长比例, 以及 turboGFP 表达的水平及所占比例。在某一个时间点几乎所用存活细胞都可以表达 TurboGFP。嘌呤霉素最佳的作用时间在 3-10 天之间。

{注意}: 病毒的 MOI 越高, 每个细胞含有的 shRNA 拷贝和嘌呤霉素耐性基因越多。在做嘌呤霉素筛选时, 需记住越高 MOI, 含越多 pac 拷贝的细胞能耐受更高的嘌呤霉素浓度。调整嘌呤霉素的浓度去筛选预定量的转导细胞, 但是嘌呤霉素的量不能低于杀死曲线建立的最低浓度。

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) 为了您的安全与健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS0004	Gentamycin Sulfate Salt 硫酸庆大霉素	1g
FS0007	Vancomycin Hydrochloride 盐酸万古霉素	100mg
FS0016	Blasticidin S (10 mg/ml) 杀稻瘟菌素 S (灭瘟素) 溶液 (10 mg/ml)	1ml
FS0017	Zeocin 博莱霉素 Phleomycin 腐草霉素 (powder)	100mg
FS0018	Zeocin (100mg/ml) 博莱霉素 Phleomycin 腐草霉素 (100 mg/ml)	125mg
FS0019	G418 Sulfate (Geneticin) 遗传霉素	1g
FS0020	Puromycin Dihydrochloride 嘌呤霉素盐酸盐	25mg
FS0027	Ampicillin, Sodium Salt 氨苄青霉素钠	10g
FS0028	Kanamycin Sulfate 硫酸卡那霉素	10g
FS0055	Ciprofloxacin Hydrochloride 盐酸环丙沙星 (细胞培养级)	1g