VigenBR
Tel: 183 628 99236
E-mail: 253540644@qq.com

Puromycin Dihydrochloride（嘌呤霉素）

一、产品信息

产品编号	产品名称	产品规格
VGA-0021-0101	嘌呤霉素 (1 mg/mL)	1 mL
VGA-0021-0102	嘌呤霉素 (1 mg/mL)	2 mL
VGA-0021-0105	嘌呤霉素 (1 mg/mL)	5 mL

二、产品介绍

Puromycin 是来源于 Streptomyces alboniger 的一种氨基核苷类抗生素，中文名为嘌呤霉素，常用于筛选通过质粒转染/转化、病毒感染等方法能表达 pac 基因(puror)的真核或原核多克隆或单克隆细胞。Puromycin 不仅用于稳定细胞株的筛选，也用于稳定细胞株的维持。本产品的 1 mg/mL 包装经过滤除菌，可以直接用于细胞培养。

Puromycin 的特点是快速作用于细胞，一般 2 d 内可以杀死 99 % 的不表达 pac 基因的细胞。

在革兰氏阳性菌、动物或昆虫细胞中，嘌呤霉素通过抑制蛋白质合成而抑制或杀死细胞。其作用机制为嘌呤霉素是氨酰-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。嘌呤霉素与 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不成熟多肽。

Pac 基因表达嘌呤霉素 N-乙酰转移酶(Puromycin N-acetyl-tranferase)，该基因是在 Streptomyces alboniger 中发现的。如果表达基因，就会对嘌呤霉素产生抗性，这一特性目前普遍应用于筛选表达 pac 基因的哺乳动物稳定细胞株等。例如，很多商业化的慢病毒载体都携带 pac 基因(一般在质粒图谱上标记为 puror)，从而利用嘌呤霉素筛选特定基因的稳定表达细胞株。嘌呤霉素也可以用来筛选表达 pac 基因的大肠杆菌菌

VigenBR
Tel: 183 628 99236
E-mail: 253540644@qq.com

株、酵母菌株等。

嘌呤霉素使用浓度建议：用于哺乳动物细胞的嘌呤霉素浓度一般为 1-10 μg/mL，但最佳工作浓度需要通过剂量反应曲线来确定。

运输与保存: 蓝冰运输；-20 °C保存，有效期 24 个月。

三、应用示例

一、嘌呤霉素剂量反应曲线的确定 (以 shRNA 转染或者慢病毒感染为例）：

嘌呤霉素的有效筛选浓度跟细胞类型、生长状态、细胞密度、细胞代谢及细胞所处细胞周期等因素相关。为了筛选到稳定表达的 shRNA 或感染病毒的细胞株，确定杀死未转染/感染细胞的最低浓度嘌呤霉素非常重要。对于初次使用的细胞，需要通过实验来确定适合自身实验体系的剂量反应曲线(dose-response curve or kill curve)。

Day 1：24 孔板中以 5 ~ 8×10^4 cells/孔的密度接种细胞，接种够量的孔以便进行后续的剂量梯度实验。细胞培养箱内培养过夜。

Day 2：在培养过夜后的细胞中更换新鲜配制的筛选培养基，该筛选培养基为含不同浓度嘌呤霉素的新鲜培养基(如 0、1、2.5、5、7.5、10 μg/mL 等)，更换培养基后在细胞培养箱中继续培养。

Day 3：由于嘌呤霉素可以快速作用于细胞，一般 2 d 内可以杀死 99 % 的未表达 pac 基因的细胞，所以在加嘌呤霉素后的 1-2 d 就可以进行观察细胞存活率，从而确定有效杀死正常细胞的药物最低浓度。如果细胞耐药性比较强，需要每日观察，一般 4-10 d 内即可确定嘌呤霉素的最低浓度。

二、哺乳动物稳定表达细胞株的筛选：

转染含有 pac 基因的质粒或者感染含有该基因的病毒后，即可筛选稳定表达株。

(1) 细胞转染或感染 48 h 后，将细胞置于含有适当浓度嘌呤霉素的新鲜培养基中培养，此为处理组。【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，所以细胞的密度最好不超过 25 %。建议同

VigenBR
Tel: 183 628 99236
E-mail: 253540644@qq.com

时做一个正常细胞的对照组。转染或感染48 h后，如果细胞过密也可以消化后重新接种细胞，培养过夜后即可进行嘌呤霉素筛选。

(2) 每隔2-3 d，更换含有嘌呤霉素的培养基。

(3) 筛选7 d后，对照组正常细胞应该100 % 死亡，处理组中存活的细胞为表达pac基因的细胞。然后根据实验目的进行多克隆或单克隆细胞的筛选。【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24 h，有效浓度嘌呤霉素的筛选周期一般在2-10 d。

(4) 待细胞可以稳定生长后，嘌呤霉素的浓度可以减半用于后续的培养。在得到稳定表达细胞株后，一般建议嘌呤霉素也须持续加入，并2-3 d更换含有嘌呤霉素的新鲜培养液。

四、注意事项

1、用于细胞实验，溶解后，须用一次性针头滤器过滤除菌。
2、抗生素不稳定，请在有效期内尽快使用。
3、本产品仅作科研用途!