

嘌呤霉素盐酸盐溶液 (10 mg/mL)

基本信息

货号	规格	形态	储存条件	运输条件	有效期
RCA0014	1 mL/1 mL×10	液体	-5~-20°C, 避光	低温	12 个月

产品简介

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。

嘌呤霉素的作用机制为抑制原核和真核核糖体上的肽基转移；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。

pH	6.0-7.0
浓度	10 mg/mL
推荐工作浓度	1-10 µg/mL
溶剂	超纯水

使用说明

1、推荐使用浓度

表 1 部分细胞系的推荐浓度（最佳浓度需要杀灭曲线来测定）：

细胞系	嘌呤霉素浓度
B16（小鼠黑素细胞）	1-2 $\mu\text{g/mL}$
HEK293（人胚胎肾细胞）	0.5-10 $\mu\text{g/mL}$
HeLa（人宫颈癌细胞）	1-10 $\mu\text{g/mL}$
MEF（小鼠成纤维细胞）	1-5 $\mu\text{g/mL}$
HepG2（人肝细胞癌）	0.5-5 $\mu\text{g/mL}$
A549（肺癌细胞）	1-2 $\mu\text{g/mL}$
H1299	1-3 $\mu\text{g/mL}$
HT1080、MCF-7	0.5-2 $\mu\text{g/mL}$
MDA-MB-231	0.5-5 $\mu\text{g/mL}$

2、嘌呤霉素杀灭曲线的测定（以慢病毒转染为例）：

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。

在稳转筛选中，通常需要事先通过查阅文献或实验测定来确定能杀死未转染细胞的最低的嘌呤霉素浓度，该浓度既可以保障后续稳转筛选时添加的嘌呤霉素剂量对未转染成功细胞具有足够的杀伤作用，也可以保障对已转染成功的细胞的毒性最小。建议初次做实验的客户建立适合自身实验体系的杀伤曲线（kill curve）。

- 1) Day 1: 24 孔板内以 $5-8 \times 10^4$ cells/孔的密度铺板， 37°C 培养过夜。
- 2) Day 2:
 - ① 准备含药培养基：含不同浓度梯度嘌呤霉素的新鲜培养基（如 $0-15\mu\text{g/mL}$ ，至少 5 个梯度）；
 - ② 将各孔换为各梯度含药培养基， 37°C 继续培养细胞。
- 3) Day 3-6: 每 48 h 更换新鲜的含药培养基，持续培养细胞，并观察细胞存活率。
- 4) 每日监测细胞，观察存活细胞率，确定加药开始 4-6 天内有效杀死非转染细胞的最低药物浓度。

3、哺乳动物稳定转染细胞株的筛选：

转染抗性基因后，将细胞在含有筛选抗生素的培养基中持续培养，杀死非转染细胞后即可筛选出稳转细胞株。

1) 细胞转染 48h 后，将细胞置于含有适当浓度筛选抗生素的新鲜培养基中持续培养。

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，抗生素杀伤效力会明显下降。最好在细胞传代时，适当调整传代比例，使其传代后密度不超过 25%。

2) 每隔 48-72 h，更换新鲜的筛选培养基。

3) 筛选开始 7 天后可以对细胞株进行鉴定，以确定稳转筛选是否完成。稳转筛选通常需要持续 1-2 周或者更多时间，时间长短和宿主细胞系、转染效率有关。

4) 筛选完成后，可以根据需要，进行传代扩增、冻存保种。

5) 稳转细胞株一旦建立成功，在后续的培养过程中可以根据自己的需要持续添加较低浓度筛选抗生素以保持其纯度的稳定，通常选择筛选浓度的 50% 作为维持浓度。

注意事项

1、嘌呤霉素为有毒化合物，操作时请做好相关防护；

2、本产品已经过 0.1 μ m 过滤除菌，融化后可直接使用；

3、使用本产品时应注意无菌操作，避免污染；

4、产品应置于 2-8 $^{\circ}$ C 中解冻，摇匀后使用，不建议反复冻融；

5、若解冻后有析出物，可以涡旋混匀或用移液器吹打混匀，室温静置 1 小时左右或者 37 $^{\circ}$ C 培养箱放置 20-30 分钟后观察析出物是否可以正常溶解，能溶解则可正常使用；

6、本产品为浓缩液，请根据需要稀释后使用；

7、常规 2-8 $^{\circ}$ C 保藏建议一月内使用完毕为宜；长期不用需 -5~-20 $^{\circ}$ C 冷冻保藏，不宜室温或者 2-8 $^{\circ}$ C 长期保藏；为避免反复冻融，用量较少时建议进行分装后冷冻保藏；

8、本产品仅用于科研或进一步研究使用，不用于诊断和治疗。