

## 产品名称 & 产品编号

产品名称: Puromycin Dihydrochloride 【58-58-2】  
产品编号: P012

## 产品性质

中文名称: 嘌呤霉素  
细胞培养的选择抗生素  
分子式: C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>  
分子量: 544.43  
纯度(TLC): >99%  
该产品具有毒性

## 产品描述

该产品广泛用作蛋白质合成的抑制剂。其结构与氨酰tRNA 3' 端上的AMP结构相似, 肽酰转移酶能促使氨基酸与嘌呤霉素结合形成肽酰嘌呤霉素, 从核糖体上脱落, 从而使蛋白质合成反应中断。能够同氨基酸结合, 代替氨酰化的tRNA同核糖体的A位点结合, 并掺入到生长的肽链中。虽然嘌呤霉素能够同A位点结合, 但是不能参与随后的任何反应, 因而导致蛋白质合成的终止并释放出C-末端含有嘌呤霉素的未成熟的多肽。

可由白色链球菌(*Streptomyces alboniger*)发酵制得的抗生素。熔点 175.5~177.0℃。旋光度-11 (乙醇)。在酸性溶液中分解成为 6-二甲胺嘌呤, O-甲基-L-酪氨酸及 3-氨基-3-去氧核糖。结构与氨酰tRNA分子中腺苷相连接的氨基酸末端基因相似, 因而它可作氨酰tRNA的类似物, 从而取代一些氨酰tRNA进入核糖体的A位与正在延伸的多肽链结合, 当延长中的肽转入此异常A位时, 容易脱落, 以肽基嘌呤霉素的形式从核糖核蛋白体上早期解离, 终止肽链合成, 从而抑制了蛋白质的合成。由于嘌呤霉素对原核和真核生物的翻译过程均有干扰作用, 故难于用做抗菌药物, 主要用作研究蛋白质合成的生物化学工具。有人试用于肿瘤治疗。

## 应用

建议浓度

储液浓度: 5-50mg/mL 溶于水

工作浓度: 1-30ug/mL(哺乳动物细胞)

1) 嘌呤霉素如今普遍应用于筛选和维持培养含 Pac 基因的哺乳动物稳定转染细胞。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。

2) 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。

应用浓度:

哺乳动物细胞的推荐使用浓度为 1-30 ug/mL, 最佳浓度需要杀灭曲线来确定。

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 125ug/mL。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。

使用步骤: (哺乳动物细胞筛选)

嘌呤霉素杀灭曲线的确定(shRNA 稳定转染细胞株, 仅作参考)

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  $5 \sim 8 \times 10^4$  cells/孔的密度铺板, 铺足够量的孔以进行后续的梯度实验。细胞孵育过夜;

(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: 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。

## 储存条件

---

4°C 储存