

Biosharp 嘌呤霉素溶液

产品名称	Biosharp 嘌呤霉素溶液
公司名称	杭州铭特生物科技有限公司
价格	.00/个
规格参数	品牌:biosharp 规格:1ml 货号:BL528A
公司地址	浙江省杭州市西湖区吉鸿时代商厦D座811室
联系电话	18358183040

产品详情

Puromycin Solution (10mg/ml)

嘌呤霉素溶液(10mg/ml)

CAS: 58-58-2 Formula: C₂₂H₂₉N₇O₅ · 2HCl MW: 544.43

产品简介：

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，常用于筛选能够表达pac基因（puror）的细胞。pac基因表达嘌呤霉素N-乙酰转移酶(Puromycin N-acetyl-transferase)，如果该基因表达，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。目前，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)，可以利用嘌呤霉素的筛选，得到特定基因稳定表达的细胞株。嘌呤霉素也可以用来筛选表达pac基因的大肠杆菌菌株、酵母菌株等。Puromycin不仅能用于稳定细胞株的筛选，也用于稳定细胞株的维持。Puromycin的作用特点是快速作用于细胞，一般2天内可以杀死99%的不表达pac基因的细胞。

本产品浓度为10mg/ml，已过滤除菌，可以直接用于细胞培养。

使用说明：

一、推荐工作浓度：

推荐的作用于哺乳动物细胞的嘌呤霉素浓度一般为1-10 μg/ml，但*佳工作浓度需要通过剂

量反应曲线来确定。

二、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与细胞类型、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*低浓度嘌呤霉素非常重要。对于初次使用的细胞，一般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)。

1、首日：24孔板中以 $5\sim 8 \times 10^4$ 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。

2、第二天：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 μ g/ml等)，更换培养基后在细胞培养箱中继续培养。

3、第三天后：由于嘌呤霉素可以快速作用于细胞，一般2天内可以杀死99%的未表达pac基因的细胞，所以在加嘌呤霉素后的1-2天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*低浓度。如果细胞耐药性比较强，需要每日观察，一般4-10天内即可确定嘌呤霉素的*低浓度。

三、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小时后，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。

注意：当细胞处于分裂活跃期时，抗生素作用*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*好不超过25%。建议同时做一个正常细胞的对照组。转染或感染48小时后，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天，更换含有嘌呤霉素的培养基。

3、筛选7天后，对照组正常细胞应该都死亡，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24小时，有效浓度嘌呤霉素的筛选周期一般在2-10天。

4、待细胞可以稳定生长后，嘌呤霉素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天更换含有嘌呤霉素的新鲜培养液。

注意事项：

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

-20℃ 保存，一年有效，尽量避免反复冻融。