

## 聚凝胺（海美溴铵）

### Polybrene ( hexadimethrine bromide )

Cat.No	产品名称	规格	储存条件	保质期
IMC-821-1 mL	聚凝胺（海美溴铵）	10 mg/ mL *1 mL	-20°C	24 个月

#### 产品简介

聚凝胺（Polybrene）也称海美溴铵（hexadimethrine bromide）是一类高价离子季铵盐多聚物，溶解后带正电，与细胞表面的阴离子结合，能显著提高逆转录病毒对细胞的感染效率，一般能是高感染效率 $2\sim 10$ 倍。Polybrene 目前广泛用于逆转录病毒及慢病毒介导的基因转染，是一种常用的促感染试剂，能显著提高病毒与细胞的接触及感染效率，其作用机理可能是通过中和细胞表面唾液酸与病毒颗粒之间的静电排斥从而促进吸附作用。同时，polybrene 也常用于哺乳动物细胞的 DNA 转染实验以增强脂质体的转染效率，但 Polybrene 对某些细胞也是存在毒性的，因此，使用之前要先对细胞进行测试。Polybrene 也是一种有名的抗肝素剂（肝素拮抗剂），常用来生产非特异性凝集的红细胞。它还参与到低分子量 DNA 的转化中。此外，Polybrene 也多用于蛋白测序，因为小剂量的 Polybrene 在自动测序分析可明显改善多肽的降解现象。PVDF 膜加入 polybrene 还能提高膜的亲和性，降低测序过程中多肽的机械损伤。

本产品以溶液形式提供，粉末用 0.9%NaCl 配制成 10 mg/mL 的溶液，并用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤除菌。使用时一般按 1:1000-1:5000 稀释，依细胞种类不同稀释比例不同，具体使用浓度请查阅相关文献或者预实验来摸索。

#### 使用说明

##### 一、逆转录病毒感染(Retroviral Infection)

- 重组逆转录病毒原液的制备：取 5 mL 生长培养基(5%血清)加入含单层转染逆转录包装细胞的 100 mm 培养皿内。孵育 24h 后，吸去培养液并用 0.45  $\mu\text{m}$  滤器过滤。
- 待感染细胞的培养：100 mm 培养皿内加入 10 mL 培养基，细胞密度为  $5 \times 10^5$ /皿。
- 病毒感染：细胞培养 24h 后，吸去培养液。用含 polybrene 的 2 mL 病毒上清（或将病毒原液稀释到 2 mL）感染细胞，polybrene 的终浓度为 5-10  $\mu\text{g/ml}$ 。37°C 孵育 3-6h。
- 收集病毒颗粒：加入 8 mL 培养基。培养 2-3 天后，收集培养基上清，处理得到病毒颗粒。

## 二、转染

1. 完全生长培养基培养细胞，培养细胞密度约 50%；
  2. 孵育细胞 18-24h 后准备 DNA-培养基-Polybrene 混合液，按如下操作制备混合液：
    - ①添加完全培养基（60 mm 培养皿 2 mL，100 mm 培养 3 mL）37℃ 预热；
    - ②添加 10 ng~10 ug 质粒轻轻混匀；
    - ③加入 Polybrene 至终浓度为 5-10  $\mu$ g/mL。轻轻混匀。以上每个成分需要按顺序加入。
  3. 去除培养基，在细胞中加入 DNA-培养基-Polybrene 溶液，在 37℃ 孵育细胞 6-20h。细胞培养的前 6h 内约每 1.5h 轻柔混匀。
  4. 去除 DNA-培养基-Polybrene 溶液。用 DMSO shock solution (15%DMSO in 1X HBSS ) 轻轻盖住细胞（60 mm 培养皿 3 mL，100 mm 培养皿 4 mL）。每次加入溶液时用手轻晃培养皿 10s，使得液体均匀分布。然后 37℃ 孵育细胞 4min。
  5. 立即去除 DMSO shock solution，用完全生长培养基轻轻清洗细胞 2 次。对于 60 mm 培养皿每次用 5 mL 培养液清洗，100 mm 培养皿每次用 10 mL 培养液清洗。
  6. 加入完全培养基到细胞中。
  7. 蛋白表达：培养 24-72 h 后，根据需要收集细胞进行蛋白表达情况检测。
- 细胞筛选：培养 24-72 h 后，根据细胞状态，换新鲜的选择培养基，继续进行细胞筛选。

### 注意事项

1. 为避免反复冻融，收到本产品或本产品配制成溶液后建议适当分装后-20℃ 保存。
2. 因为 Polybrene 对某些细胞可能有一定的毒性，而且 Polybrene 长时间作用(大于 12 小时)也可能对某些细胞产生毒性，所以初次使用 Polybrene 处理细胞，建议先做毒性测试。
3. 本产品可能对人体有一定的毒害作用，请注意适当防护，以避免直接接触人体或吸入体内。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅供科研实验用，不做其它用途！