

## 聚凝胺溶液(Polybrene, 10 mg/ml)

### 产品简介

聚凝胺 (Polybrene) , 又名海美溴铵, 是一种多聚阳离子聚合物, 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。Polybrene 目前广泛用于逆转录病毒及慢病毒介导的基因转染, 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。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。另外 Polybrene 也多用于蛋白测序, 因为小剂量的 Polybrene 在自动测序分析中可明显改善多肽的降解现象。

聚凝胺溶液(Polybrene, 10 mg/ml)为即用型溶液, 由生理盐水和高纯度海美溴铵配制而成, 并用 0.22 $\mu$ M 滤膜过滤除菌, 使用时一般按 1:1000-1:2000 的比例稀释。细胞种类不同稀释比例不同, 具体查阅相关文献。聚凝胺溶液对某些细胞 (如末端分化的神经元, DC 细胞) 毒性较大, 初次应用建议先做毒性测试。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称	编号	ADS133CZ0/1/2/3				Storage
	聚凝胺溶液(Polybrene, 10 mg/ml)	500 $\mu$ l	1ml	10ml	20ml	-20 $^{\circ}$ C
使用说明书	1 份					

### 操作步骤(仅供参考)

#### (一) 逆转录病毒感染 (Retroviral Infection)

- 1、重组逆转录病毒原液的制备: 取 5ml 生长培养基 (5%血清) 加入约含单层转染逆转录包装细胞的 100mm 培养盘内。孵育 24h 后, 吸去培养液并用 0.45 $\mu$ m 滤器过滤。
- 2、待感染细胞的培养: 100mm 培养盘内加入 10ml 完全培养基, 细胞密度约为  $5 \times 10^5$ /盘。
- 3、病毒感染: 细胞培养 24h 后, 吸去完全培养液。用含 Polybrene 的 2ml 病毒上清 (或将病毒原液稀释到 2ml) 感染细胞, Polybrene 的终浓度为 5 $\mu$ g-10 $\mu$ g/ml。37 $^{\circ}$ C 孵育 3-6h。
- 4、收集病毒颗粒: 加入 8ml 完全培养基。感染 3 天后, 按照 1:5 的比例用选择培养基裂解细胞。

## (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（60mm 培养皿加入 2ml，100mm 培养皿加入 3ml）37°C 预热；
  - ②添加 10ng~10 $\mu$ g 质粒轻轻混匀；
  - ③加入 Polybrene 至终浓度为 5 $\mu$ g-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°C 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 1 $\times$  HBSS）轻轻盖住细胞（60mm 培养皿加入 3ml，100mm 培养皿加入 4ml）。每次加入溶液时用手轻轻摇晃培养盘 10s，使得液体均匀分布。然后 37°C 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 60mm 培养皿每次用 5ml 培养液清洗，100mm 培养皿每次用 10ml 培养液清洗。
- 6、加入完全培养基到细胞中；
- 7、稳定转化：去除生长培养基，按照 1:5 的比例用选择培养基裂解细胞。  
瞬时表达：去除生长培养基，加入新鲜的生长培养基。24-72h 后收获细胞。

#### 参考浓度：

Polybrene 的具体使用浓度依据细胞种类，转染方法等影响，以下使用浓度仅作参考。

- 1、为提高腺病毒转染效率和 LacZ 转基因表达，使用 6 $\mu$ g/ml Polybrene 处理病毒载体后转入 BHK-21 细胞（MOI 为 100），转染率提高到 95%，没有用 Polybrene 处理的只有 2.3% 转染率。
- 2、在 KSHV(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus)纯化和转染实验中，浓缩的病毒与 8 $\mu$ g/ml Polybrene 加到 BCBL-1 细胞中 37°C 下孵育 2h。
- 3、在逆转录病毒构建研究中，用 v-rasHa 逆转录病毒转染角质细胞（Keratinocytes）后在含有 4 $\mu$ g/ml Polybrene 培养基中培养 3 天，病毒滴度为 1 $\times$ 10<sup>7</sup> virus/ml，MOI 为 1。
- 4、在 shRNA 编码的慢病毒载体的转染研究中，病毒上清中加入 8 $\mu$ g/ml Polybrene，转染到 HEK293 细胞中。
- 5、在慢病毒 shRNA 转染研究中，将含有 6 $\mu$ g/ml Polybrene 的新鲜培养基加入到培养 24h 的 RCC10 细胞中，用慢病毒颗粒转染细胞。

#### 注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**12 个月。低温运输，-20°C 保存。