ZETA Life Biotechnology Co., Ltd
3443 S GALENA ST STE 300 DENVER CO 80231 US
Tel: (+1) 85524513675、email: info@zeta-life.com、www.zeta-life.com

ZETA life®

Polybrene/聚凝胺

包装规格

产品编号：ZT10001

规格：0.5ml

储存条件

2-8° C 避光 1 年； -20° C 避光 2 年

产品介绍：

Polybrene（聚凝胺）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介导的基因转染，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。本产品为即用型溶液，粉末用 0.9%NaCl 配置成 10mg/ml 的溶液，并用 0.22μM 滤膜过滤除菌。使用时一般按 1:1000-1：2000 稀释，依细胞种类不同稀释比例不同，具体查阅相关文献。注：Polybrene 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。

试剂盒组份：

名称	保存	规格
Polybrene（hexadimethrine bromide） 浓度：10ug/ul,稀释 1:1000-1：2000	4°C 避光 1 年； -20°C 避光 2 年	0.5mL

操作说明：

实验1：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0.45μm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，细胞密度为5×105/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5μg-10μg/ml。37° 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。

实验2：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2ml，100mm培养皿3ml）37° C预热；②添加10ng~10μg质粒轻轻混匀；③加入Polybrene至终浓度为5μg-10μg/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 1X HBSS）轻轻盖住细胞（60mm培养

（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。皿3ml，100mm培养皿4ml）。每次加入溶液时用手轻晃培养盘10s，使得液体均匀分布。然后37° C孵育细胞4min。

（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。

使用浓度（详细步骤见文献）：

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 6ug/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 8ug/ml Polybrene 加到 BCBL-1 细胞中 37℃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 4μg/ml Polybrene 培养基中培养 3 天，病毒滴度为 1×107 virus/ml，MOI 为 1[4]。

（4) 在 shRNA 编码的慢病毒载体的转染研究中，病毒上清中加入 8μg/ml Polybrene，转染到 HEK293 细胞中[5]。

（5) 在慢病毒 shRNA 转染研究中，将含有 6μg/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。

仅供科学研究使用，禁止用于它用