

## Polybrene (10mg/ml) 聚凝胺 (10mg/ml)

### 产品信息

名称	货号	规格
Polybrene (10mg/ml) 聚凝胺 (10mg/ml)	NBS2554-1ml	1ml
Polybrene (10mg/ml) 聚凝胺 (10mg/ml)	NBS2554-5ml	5x1ml

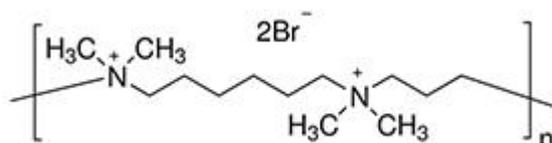
### 产品简介

Hexadimethrine Bromide, 中文名海(地)美溴铵, CAS: 28728-55-4, 一种多聚阳离子聚合物, 广为人知的一种抗肝素剂(肝素拮抗剂), 归于其中和红细胞表面净负电荷的能力, 常用来产生红细胞的非特异性凝集。利用凝聚特性, 也提供了一种准确、快速和简单的方法用来体外测定肝素活性。自动化测序分析小剂量的海美溴铵可明显改善多肽的降解现象, 因其加入提高 PVDF 膜的亲水性, 减低测序过程中多肽的机械损失。海美溴铵能够增强脂质体转染效率, 常常用在哺乳动物细胞的 DNA 转染实验。比如, 可转染低分子量质粒 DNA 进入细胞系(如 CHO), 这种细胞用其他方法如磷酸钙共沉淀转染相对比较难。也常用于逆转录病毒、慢病毒介导的基因转染。作用原理可能在于能够中和细胞表面唾液酸与病毒颗粒之间的静电排斥和增强受体不依赖的病毒吸收, 来增强病毒的感染效率。

本品为无菌溶液, 浓度为 10mg/ml, 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, 具体查阅相关文献或根据实验室经验来调整。

### 基本特性

- 1) CAS: 28728-55-4
- 3) 同义名: Hexadimethrine Bromide; 1,5-Dimethyl-1,5-diazaundecamethylene polymethobromide;
- 3) 纯度:  $\geq 94\%$  (titration)
- 4) 浓度: 10mg/ml in H<sub>2</sub>O, 无菌
- 5) 化学结构式:



### 保存与运输方法:

**保存:** -20℃冻存二年稳定。

**运输:** 冰袋运输。

## 操作方法

### 一、逆转录病毒感染 (Retroviral Infection)

1. 重组逆转录病毒母液的制备: 取 5ml 含 5%血清的生长培养基加入约铺满单层转染后逆转录病毒包装细胞的 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: 取 10ml 完全培养基加入 100mm 培养皿内, 细胞密度为  $5 \times 10^5$ 。
3. 病毒感染: 孵育 24h 后, 吸去生长培养基。用含 5-10  $\mu$ g/ml polybrene 的 2ml 病毒上清液 (或将病毒原液稀释到 2ml) 感染细胞。37° C 孵育 3-6h。
4. 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进行细胞分盘。

参考文献: ① Toyoshima, K. and Vogt, P. K., 1969. *Virology*. 38:414-426

② Coelen, J. R., Jose, D. G. and May, J. T. 1983. *Arch. Virol.* 75:307-311

### 二、转染 (Transfection)

1. 用完全生长培养基进行铺板, 细胞密度约 50%。
  2. 铺板 18-24h 后, 按照以下步骤准备 DNA-Polybrene 混合液:
    - ① 取适量完全培养基 (2ml/60mm 培养皿, 3ml/100mm 培养皿), 于 37° C 预热;
    - ② 添加 10ng~10 $\mu$ g 质粒轻轻混匀;
    - ③ 加入 Polybrene 使其终浓度为 5-10  $\mu$ g/ml。轻轻混匀。
- 【注意】:** 必须按照适当的顺序添加各个组分。
3. 吸走培养基, 添加 DNA-培养基-Polybrene 混合液到细胞内。37° C 孵育 6-20h, 并在前 6h 内约每 1.5h 轻轻摇晃混匀。
  4. 吸走 DNA-培养基-Polybrene 混合液, 用 DMSO 震荡液 (15% DMSO in 1X HBSS) 轻轻覆盖细胞, 按照 3ml/60mm 培养皿, 4ml/100mm 培养皿比例加量, 每 10s 用手晃动培养皿使 DMSO 震荡液均匀分布, 于 37° C 孵育 4min。
  5. 立即吸走 DMSO 震荡液, 用完全培养基轻轻清洗细胞 2 次, 60mm 培养皿每次用 5ml 清洗, 100mm 培养皿每次用 10ml 清洗。
  6. 加入完全培养基到细胞内。
  7. 对于稳定转染, 吸走生长培养基, 按照 1:5 的比例用选择培养基进行细胞分盘。对于瞬时表达, 吸走生长培养基, 加入新鲜生长培养基。24-72h 后收集细胞和/或培养基。

参考文献: ① Chaney, W. G. et al., 1986. *Somatic Cell and Molecular Genetics*. Vol. 12, No. 23, 237-244.

② Aubin, R. J. et al. 1988. *Somatic Cell and Molecular Genetics*. Vol. 14, No. 2, 155-167.

③ Chisholm, O. et al., 1998. *Nucleic Acids Research*. Vol. 16, No. 5, 2352

## 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。