

V 1.0.0

Polybrene(聚凝胺)

产品简介:

Polybrene(聚凝胺)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。一般能提高感染效率 2~10 倍。Polybrene 目前广泛用于慢病毒或质粒介导的哺乳动物细胞转染。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。

另外 Polybrene 也用于蛋白测序, 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。PVDF 膜加入 polybrene 还能提高膜的亲和性。

产品信息:

产品编号	产品名称	规格
GM-040901A	Polybrene(聚凝胺)	0.5 mL (10 mg/mL)
GM-040901B		2 × 1.25 mL (10 mg/mL)
GM-040901S		20 μL (10 mg/mL)

保存条件:

4℃保存有效期一年; 也可-20℃保存。

使用方法:

1. 慢病毒感染

1) 第一天按实验需要将细胞铺板(比如 24 孔板)。细胞数以第 2 天密度约 30~40% 为宜。37℃ 培养过夜。

2) 第二天感染前, 从-80℃冰箱取出病毒后冰浴融化, 参考相关文献或者根据预实验得到的 MOI 值用新鲜完全培养基将病毒稀释成所需浓度。注意: 轻轻混匀, 不要使用振荡器。

3) 吸去细胞原有培养基, 将按照 MOI 稀释好的病毒液+培养基+ Polybrene (对于 293 细胞, 终浓度 5 μg/mL) 加入细胞中, 轻轻摇匀。37℃培养过夜

注: 病毒液-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 2.5mL, 100 mm 培养皿 5mL), 37℃ 预热; ②加入病毒轻轻混匀; ③加入 Polybrene 至终浓度为 2-12 μg/ml。轻轻混匀。以上每个成分需要按顺序加入。当 MOI 高于 20 时, 我们建议客户添加 Polybrene

(终浓度 2~12 $\mu\text{g/ml}$, 浓度因不同的细胞而异, 具体的请参考相关文献) 来提高病毒的感染效率。如果感染目的细胞是 Jurkat, kasumi, NB4, H929, GBC-SD, MCF-7 等, 建议不要添加 Polybrene; 大部分原代细胞感染也不需要添加 Polybrene, 以上仅供参考。

- 4) 感染 16 小时后, 吸除含慢病毒的培养基, 换为新鲜的培养基。
- 5) 感染 48~72 小时后, 根据需要收集细胞检测目的蛋白的表达。

2. 质粒转染

- 1) 第一天按实验需要将细胞铺板 (比如 24 孔板)。细胞数以第 2 天密度约 80% 为宜。37°C 培养过夜。
- 2) 准备 DNA-培养基- Polybrene 混合液 (具体加入方法与慢病毒转染相同)。
- 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 6-20 h。
- 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 10 s, 使得液体均匀分布。然后 37°C 孵育细胞 4 min。
- 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, 根据需要进行后续实验。

注意事项:

1. 使用本试剂前请仔细阅读本说明书全文。
2. 整个实验, 应规范操作包括反应体系的配制、样本处理及加样。
3. 为了您的健康, 实验操作时请穿实验服和带一次性手套。

相关产品:

名称	产品编号
GM easy™ Lentiviral Packaging Kit 慢病毒包装试剂盒	GMeasy-10
GM easy™ Lentiviral Packaging Kit 慢病毒包装试剂盒	GMeasy-20
GM easy™ Lentiviral Packaging Kit 慢病毒包装试剂盒	GMeasy-40
GML-PC™ Lentiviral Concentration Kit 慢病毒浓缩试剂盒	GM-040801-15
GML-PC™ Lentiviral Concentration Kit 慢病毒浓缩试剂盒	GM-040801-50
GML-PC™ Lentiviral Concentration Kit 慢病毒浓缩试剂盒	GM-040801-100