

Polybrene (Hexadimethrine Bromide)

—————聚凝胺 (10mg/ml)

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。

产品组成

名称 编号	FS1151	FS1151	Storage
Polybrene (10mg/ml) 聚凝胺	1ml	5*1ml	-20°C
使用说明书	1 份		

基本特性:

CAS: 28728-55-4

同义名: Hexadimethrine Bromide; 1,5-Dimethyl-1,5-diazaundecamethylene polymethobromide;

纯度: $\geq 94\%$ (titration)

浓度: 10mg/ml in H₂O, 无菌

保存于运输方法: 冰袋运输。-20°C 避光干燥保存, 2 年稳定有效。

操作步骤

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 0.45 μ 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, 细胞密度为 5×10^5 /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 μ g-10 μ g/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。2. 染色步骤

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-10 μ g 质粒轻轻混匀；③加入 Polybrene 至终浓度为 5 μ g-10 μ 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 1X HBSS）轻轻盖住细胞（60mm 培养皿 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。
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。

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。