

Polybrene 产品说明书

产品信息

产品名称	Polybrene (Hexadimethrine Bromide)
产品编号	BC-Polybrene-200/BC-Polybrene-500
规格(μL)	200ul/500ul
储存条件	-20°C (建议分装保存, 避免反复冻融)
运输方式	干冰运输

产品简介

Polybrene (聚凝胺), 也称 Hexadimethrine Bromide (海美溴铵或地美溴铵), 是一种多聚阳离子聚合物, 其分子式为(C₁₃H₃₀Br₂N₂)_n。



Polybrene 广泛用于提高慢病毒 (Lentivirus) 和逆转录病毒 (Retroviridae) 等病毒对细胞的感染效率, 也可用于哺乳动物细胞的转染、增强脂质体的转染效率。其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, 从而促进病毒颗粒的吸附作用。

本产品以 10 mg/mL 的溶液形式提供, 用 0.9% NaCl 配制而成, 并用 0.22μM 滤膜过滤除菌。
使用时应根据细胞类型查阅相关文献进行适当稀释使用。

包装清单

产品编号	产品名称	规格
BC-Polybrene-200	Polybrene (Hexadimethrine Bromide)	200ul
BC-Polybrene-500	Polybrene (Hexadimethrine Bromide)	500ul
-	说明书	1 份

注意事项

- ❖ 为避免反复冻融, 收到本产品后建议分装, -20°C 保存 (使用时可 4°C 短暂保存一周)。
- ❖ Polybrene 对某些细胞 (如末端分化的神经元, DC 细胞) 可能具有较大毒性, 初次使用前建议先进行毒性测试。
- ❖ 操作时应穿戴实验服和一次性手套, 避免直接接触。
- ❖ 本产品仅供科研使用, 不适用于临床诊断或治疗。

使用说明

1. 推荐工作浓度

Polybrene 最佳终浓度因不同细胞株而异，通常范围在 2-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，最常用的浓度为 5-8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。可以通过查阅相关文献或者预实验进行摸索细胞最佳感染浓度。

2. 使用方法（以慢病毒感染 HEK293T 细胞为例）

❖ Day1: 准备细胞。按实验需求将细胞铺板（比如 24 孔板），约 $3-5 \times 10^4$ 个目的细胞/孔，铺板时细胞的融合率为 50% 左右，每孔培养基体积为 100 μl ；病毒感染时细胞的融合度约为 70% 左右为宜。

❖ Day2:

A. 病毒准备。病毒感染前，从 -80 $^{\circ}\text{C}$ 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最适 MOI 值用新鲜完全培养基将病毒稀释成所需浓度，并加入适量 Polybrene（**HEK293T 细胞的最适终浓度为 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$** ），轻轻混。

B. 病毒感染：在 HEK293T 细胞中加入合适 MOI 值对应的含 Polybrene 的病毒（病毒液+培养基+Polybrene），混匀后放于二氧化碳培养箱（37 $^{\circ}\text{C}$ 、2% CO_2 ）孵育过夜。

注：感染前细胞的状态对最终的感染效果影响较大，应保证加病毒之前细胞处于良好的生长状态。

❖ Day3: 更换培养液。病毒感染 24 小时后，更换新鲜培养液后继续培养(具体换液时间可根据目的细胞进一步调整)。

❖ Day5: 感染效率检测。在倒置荧光显微镜观察荧光，评估慢病毒感染目的细胞的效率；若目的载体上未携带荧光报告基因，可以通过 Real-time RT-PCR 检测目的基因的表达来评估感染效率。

3. 常见问题及解决方案

❖ 细胞大量死亡：可能是由于 polybrene 添加过多或感染时间过长。建议降低 MOI 值，并在感染后 4-8 小时内更换培养基。

❖ EGFP 荧光弱：病毒感染细胞内的慢病毒颗粒数、细胞状态、细胞类型及观察时间都会影响荧光强度。建议继续培养一段时间再观察。

❖ 目的基因表达水平无法检测：可能是目的基因与目的细胞系统不兼容。建议同时培养、感染目的细胞和 293T 工具细胞，进行 qPCR 检测。