

組換バキュロウイルス作製手順 (参考例)

・使用試薬&器具

- ・ Sf9 細胞 (3×10^6 cells/mL~ 6×10^6 cells/mL に増殖している培養細胞)
- ・ PSFM-J1(コード : 168-25851) 5 mL 程度 (使用前に 27 度に保温しておく)
- ・ BEVS 用発現ベクター 2 μ g
- ・ 直線化されたバキュロウイルスゲノム(BEVS 用発現ベクターに合った物) 90 ng
- ・ ScreenFectA plus(コード : 293-77101) or ScreenFectA(コード : 293-73201)
- ・ 25 cm² T フラスコ(Ex: 25 cm² カント(傾斜)ネックフラスコベントキャップスカート付き)
- ・ 滅菌済みチップ等

・試験方法

① PSFM-J1 培地 3mL が入った T-25cm² のフラスコに Sf9 (2×10^6 cells) を播種し、30 分静置する。

② 1.5 mL エッペンドルフチューブに以下の試薬を順に混合する。

・ PSFM-J1(コード : 168-25851)	_____	91.6 μ L
・ 発現ベクター (450 ng/ μ L) total 2 μ g	_____	4.4 μ L
・ L-AcNPV-DNA 溶液(45ng/ μ L) total 90ng	_____	2.0 μ L
・ ScreenFectA or ScreenFectA plus	_____	2.0 μ L
		Total 100 μ L

③ ②作製した溶液を 30 分間 27 度でインキュベーションする。

④ ③で作製した溶液に 1.0 mL の PSFM-J1 培地を添加する。

⑤ ①で用意したフラスコに④で作製した溶液を全量加え、28°C のインキュベーター内で静置培養する。

⑥ 7 日後、培養上清を 5 mL チューブに移し「コトランスフェクション溶液」とする。