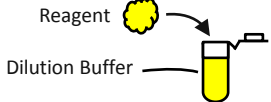
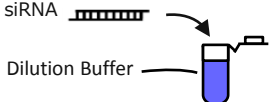
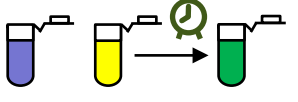

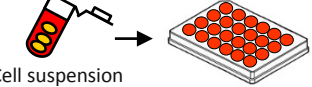
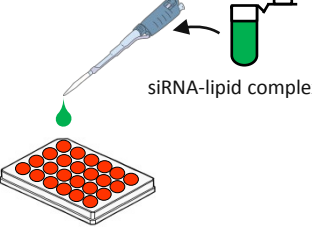
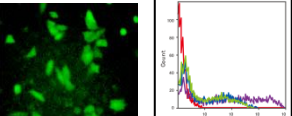
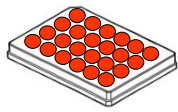
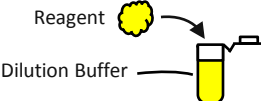
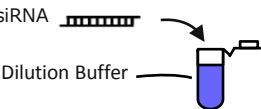

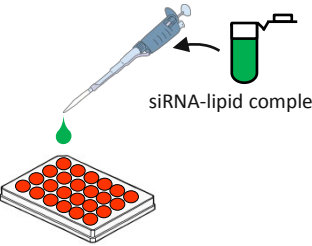
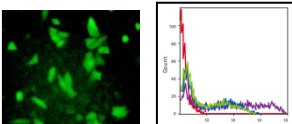


1-Step法 (リバーストランスフェクション法)

時間	実験工程	
1	 <p>Reagent Dilution Buffer</p>	<p>Dilution BufferにScreenFect™ siRNA Reagent※1を添加する。 十分に混合する。 ※1 添加前にポルテックスミキサーで十分に混合する。</p>
	 <p>siRNA Dilution Buffer</p>	<p>Dilution BufferにsiRNAを添加する。 十分に混合する。</p>
2	 <p>siRNA-lipid complex</p>	<p>希釈済みScreenFect™ siRNA Reagentと希釈済みsiRNA溶液を混合する。 5分以上室温でインキュベートする。 * ③以下の細胞懸濁液の調製とウェルプレートへの播きこみが完了するまでインキュベート可</p>
3	 <p>Cultured cells</p>	<p>トランスフェクションに必要な細胞を用意する。</p>
4	 <p>Cell suspension</p>	<p>トリプシンやAccutase®をもちいて細胞を剥離し、細胞懸濁液を調製する。 ウェルプレートや培養シャーレに必要な細胞数播く。</p>
5	 <p>siRNA-lipid complex</p>	<p>工程2で調製したsiRNA-lipid complexを上記工程で細胞懸濁液を添加した培養プレートに添加する。</p>
6		<p>蛍光観察, フローサイトメトリーなど各種手法によりトランスフェクション細胞を解析する。</p>

コンポーネント	プロトコール 詳細			
	96-well	24-well	12-well	6-well
Dilution Buffer for ScreenFect™ siRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
ScreenFect™ siRNA Transfection Reagent	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
Dilution Buffer for ScreenFect™ siRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
siRNA	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA
希釈済み siRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
希釈済み ScreenFect™ siRNA Transfection Reagent	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
接着細胞 or 浮遊細胞	1.0-4.0 × 10 ⁴	0.5-2.0 × 10 ⁵	1.0-4.0 × 10 ⁵	0.25-1.0 × 10 ⁶
細胞剥離 (Trypsin or Accutase®)				
最終組成 [/well]	96-well	24-well	12-well	6-well
siRNA-lipid complex 量	10 μL	50 μL	100 μL	250 μL
siRNA 量	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA
ScreenFect™ siRNA Transfection Reagent 量	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
培地量	100 μL	500 μL	1000 μL	2000 μL
1-3 日間, 37°Cで細胞を培養し、目的に応じてアッセイを行う。				

2-Step法 (フォワードトランスフェクション法)

時間		実験工程	プロトコール 詳細					
1	Day 0	 <p>Pre-Cultured cells</p>	トランスフェクション前に、細胞を70-90%コンフルエントまで培養する。	コンポーネント	96-well	24-well	12-well	6-well
				接着細胞 or 浮遊細胞 $1.0-4.0 \times 10^4$ $0.5-2.0 \times 10^5$ $1.0-4.0 \times 10^5$ $0.25-1.0 \times 10^6$	細胞を70-90%コンフルエントまで培養する。2-Step法の場合、培地交換を行うとトランスフェクション効率が改善する場合があります。			
2		 <p>Reagent Dilution Buffer</p>	Dilution BufferにScreenFect™ siRNA Reagent※1を添加する。十分に混合する。 ※1 添加前にボルテックスミキサーで十分混合する。	Dilution Buffer for ScreenFect™ siRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
		 <p>siRNA Dilution Buffer</p>	Dilution BufferにsiRNAを添加する。十分に混合する。	ScreenFect™ siRNA Transfection Reagent	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
3	Day 1	 <p>siRNA-lipid complex</p>	希釈済みScreenFect™ siRNA Reagentと希釈済みsiRNA溶液を混合する。5分間以上室温でインキュベートする。※2 ※2 推奨時間: 15~20分	Dilution Buffer for ScreenFect™ siRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
				siRNA	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA
4		 <p>siRNA-lipid complex</p>	siRNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。	希釈済み siRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
				希釈済み ScreenFect™ siRNA Transfection Reagent	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
5	Day 2~		蛍光観察, フローサイトメトリーなど各種手法によりトランスフェクション細胞を解析する。	最終組成 [/well]	96-well	24-well	12-well	6-well
				siRNA-lipid complex 量	10 μL	50 μL	100 μL	250 μL
				siRNA 量	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA
				ScreenFect™ siRNA Transfection Reagent 量	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
				培地量	100 μL	500 μL	1000 μL	2000 μL
				1-3日間、37°Cで細胞を培養し、目的に応じてアッセイを行う。				