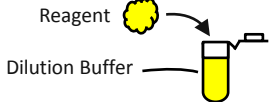
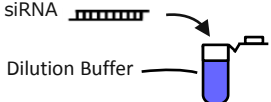
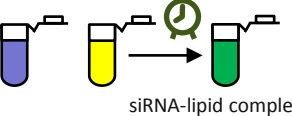

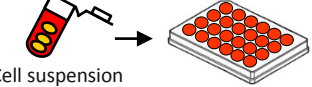
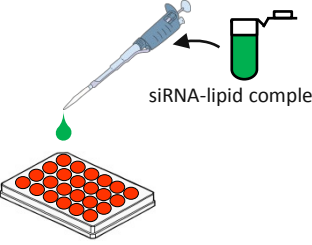
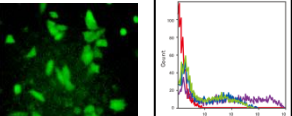


ScreenFect™ A plus トランスフェクション プロトコール 細胞によってsiRNAとトランスフェクション試薬の最適な混合比が異なります。数パターンの混合比を検討のうえ、最適な混合比の検証を推奨いたします。

1-Step法 (リバーストランスフェクション法)

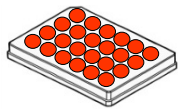
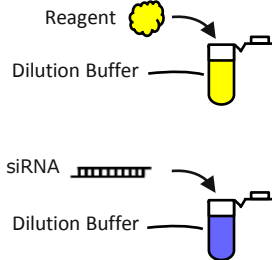
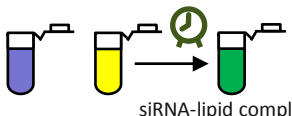
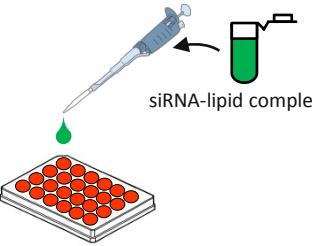
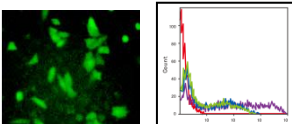
時間	実験工程	
1	 <p>Reagent Dilution Buffer</p>	<p>Dilution BufferにScreenFect™ A plus Reagent※1を添加する。 十分に混合する。 ※1 添加前にポルテックスミキサーで十分に混合する。</p>
	 <p>siRNA Dilution Buffer</p>	<p>Dilution BufferにsiRNAを添加する。 十分に混合する。</p>
2	 <p>siRNA-lipid complex</p>	<p>希釈済みScreenFect™ A plus Reagentと希釈済みsiRNA溶液を混合する。 5分以上室温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™ A plus	5 µL	25 µL	50 µL	125 µL
ScreenFect™ A plus Transfection Reagent	0.1 – 0.3 µL	0.5 – 1.5 µL	1.0 – 3.0 µL	2.5 – 7.5 µL
Dilution Buffer for ScreenFect™ A plus	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™ A plus 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™ A plus Transfection Reagent 量	0.1 – 0.3 µL	0.5 – 1.5 µL	1.0 – 3.0 µL	2.5 – 7.5 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。				

For support, please visit the <http://screenfect.jp>

ScreenFect™ A plus トランスフェクション プロトコール 細胞によってsiRNAとトランスフェクション試薬の最適な混合比が異なります。数パターンの混合比を検討のうえ、最適な混合比の検証を推奨いたします。

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		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
	Pre-Cultured cells		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
2		Dilution BufferにScreenFect™ A plus 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™ A plus	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
		Dilution BufferにsiRNAを添加する。十分に混合する。	ScreenFect™ A plus Transfection Reagent	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
3 Day 1		希釈済みScreenFect™ A plus 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™ A plus	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
	siRNA-lipid complex		siRNA	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA
4		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™ A plus 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™ A plus 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。				