

ScreenFect™A トランスフェクション プロトコール 細胞によってDNA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)

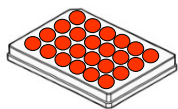
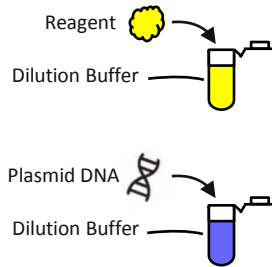

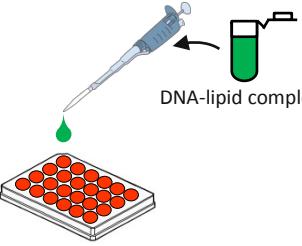
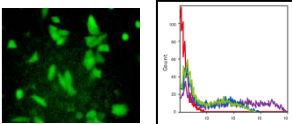
時間	実験工程
1	<p>Reagent Dilution Buffer</p> <p>Dilution BufferにScreenFect™A Reagent※1を添加する。十分に混合する。 ※1 添加前にポルテックスミキサーで十分混合する。</p>
	<p>Plasmid DNA Dilution Buffer</p> <p>Dilution BufferにDNAを添加する。十分に混合する。</p>
2	<p>DNA-lipid complex</p> <p>希釈済みScreenFect™A Reagentと希釈済みDNA溶液を混合する。5分間以上室温でインキュベートする。 * ③以下の細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細胞数播く。</p>
5	<p>DNA-lipid complex</p> <p>工程2で調製したDNA-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>Day 1 ~</p> <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>

プロトコール 詳細		96-well		24-well		12-well		6-well	
コンポーネント									
Dilution Buffer for ScreenFect™A		5 μL		25 μL		50 μL		125 μL	
DNA : Transfection Reagent 混合比		1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6
ScreenFect™A Transfection Reagent		0.25 μL	0.3 μL	1.25 μL	1.5 μL	2.5 μL	3.0 μL	6.25 μL	7.5 μL
Dilution Buffer for ScreenFect™A		5 μL		25 μL		50 μL		125 μL	
DNA (0.1-2.5 μg / μL)		50 ng		250 ng		500 ng		1250 ng	
希釈済み DNA		5 μL		25 μL		50 μL		125 μL	
希釈済み ScreenFect™A 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	
DNA-lipid complex 量		10 μL		50 μL		100 μL		250 μL	
DNA 量		50 ng		250 ng		500 ng		1250 ng	
ScreenFect™A Transfection Reagent 量		0.25 or 0.3 μL		1.25 or 1.5 μL		2.5 or 3.0 μL		6.25 or 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 トランスフェクション プロトコル

細胞によってDNA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
1 Day 0  Pre-Cultured cells	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。
2 	Dilution BufferにScreenFect™A 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にDNAを添加する。十分に混合する。
3 Day 1  DNA-lipid complex	希釈済みScreenFect™A Reagentと希釈済みDNA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
4  DNA-lipid complex	DNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。
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。

プロトコル 詳細		96-well				24-well		12-well		6-well	
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 × 10 ⁴				0.5-2.0 × 10 ⁵		1.0-4.0 × 10 ⁵		0.25-1.0 × 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。											
Dilution Buffer for ScreenFect™A		5 μL				25 μL		50 μL		125 μL	
DNA : Transfection Reagent 混合比		1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6
ScreenFect™A Transfection Reagent		0.25μL	0.3 μL	1.25μL	1.5 μL	2.5μL	3.0 μL	6.25μL	7.5 μL		
Dilution Buffer for ScreenFect™A		5 μL				25 μL		50 μL		125 μL	
DNA (0.1-2.5 μg / μL)		50 ng				250 ng		500 ng		1250 ng	
希釈済み DNA		5 μL				25 μL		50 μL		125 μL	
希釈済み ScreenFect™A Transfection Reagent		5 μL				25 μL		50 μL		125 μL	
最終組成 [/well]		96-well				24-well		12-well		6-well	
DNA-lipid complex 量		10 μL				50 μL		100 μL		250 μL	
DNA 量		50 ng				250 ng		500 ng		1250 ng	
ScreenFect™A Transfection Reagent 量		0.25 or 0.3 μL				1.25 or 1.5 μL		2.5 or 3.0 μL		6.25 or 7.5 μL	
培地量		100 μL				500 μL		1000 μL		2000 μL	

1-3日間、37℃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>