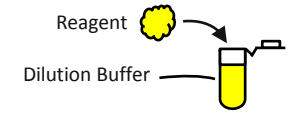
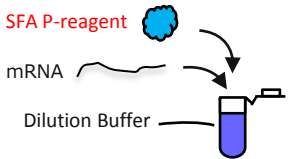


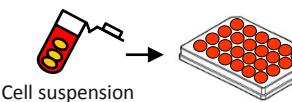
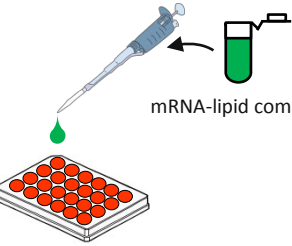
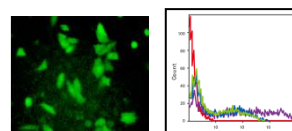


ScreenFect™ mRNA トランスフェクション プロトコール 細胞によってmRNAとトランスフェクション試薬の最適な混合比が異なります。数パターンの混合比を検討のうえ、最適な混合比の検証を推奨いたします。

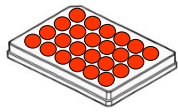
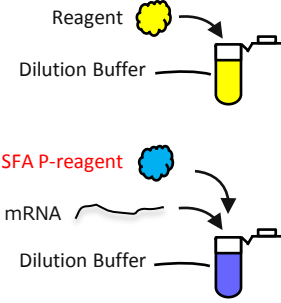

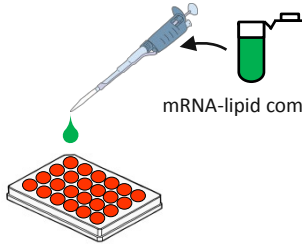
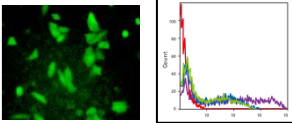
## 1-Step法 (リバーストランスフェクション法)

時間	実験工程	
1	 <p>Reagent Dilution Buffer</p>	<p>Dilution BufferにScreenFect™ mRNA 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>SFA P-reagent mRNA Dilution Buffer</p>	<p>Dilution BufferにSFA P-reagentとmRNAを添加する。十分に混合する。</p>
2	 <p>mRNA-lipid complex</p>	<p>希釈済みScreenFect™ mRNA Reagentと希釈済みmRNA溶液(+SFA P-reagent)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な細胞数播く。</p>
5	 <p>mRNA-lipid complex</p>	<p>工程2で調製したmRNA-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>

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™ mRNA		5 µL		25 µL		50 µL		125 µL	
mRNA : Transfection Reagent 混合比		1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4
ScreenFect™ mRNA Transfection Reagent		0.15 µL	0.2 µL	0.75 µL	1.0 µL	1.5 µL	2.0 µL	3.75 µL	5.0 µL
Dilution Buffer for ScreenFect™ mRNA		5 µL		25 µL		50 µL		125 µL	
mRNA (0.1-2.5 µg / µL)		50 ng		250 ng		500 ng		1250 ng	
SFA P-reagent (2µL / µg mRNA)		0.1 µL		0.5 µL		1.0 µL		2.5 µL	
希釈済み mRNA (+SFA P-reagent)		5 µL		25 µL		50 µL		125 µL	
希釈済み ScreenFect™ mRNA Transfection Reagent		5 µL		25 µL		50 µL		125 µL	
接着細胞 or 浮遊細胞		1.0-4.0 × 10 <sup>4</sup>		0.5-2.0 × 10 <sup>5</sup>		1.0-4.0 × 10 <sup>5</sup>		0.25-1.0 × 10 <sup>6</sup>	
細胞剥離 (Trypsin or Accutase®)									
最終組成 [ /well ]		96-well		24-well		12-well		6-well	
mRNA-lipid complex 量		10 µL		50 µL		100 µL		250 µL	
mRNA 量		50 ng		250 ng		500 ng		1250 ng	
SFA P-reagent 量		0.1 µL		0.5 µL		1.0 µL		2.5 µL	
ScreenFect™ mRNA Transfection Reagent 量		0.15 or 0.2 µL		0.75 or 1.0 µL		1.5 or 2.0 µL		3.75 or 5.0 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。									

ScreenFect™ mRNA トランスフェクション プロトコール 細胞によってmRNA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
<b>1 Day 0</b>  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。
<b>2</b> 	Dilution BufferにScreenFect™ mRNA 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SFA P-reagentとmRNAを添加する。十分に混合する。
<b>3 Day 1</b> 	希釈済みScreenFect™ mRNA Reagentと希釈済みmRNA溶液(+SFA P-reagent)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
<b>4</b> 	mRNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。
<b>5 Day 2~</b> 	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。

プロトコール 詳細								
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 <sup>4</sup>	0.5-2.0 × 10 <sup>5</sup>	1.0-4.0 × 10 <sup>5</sup>	0.25-1.0 × 10 <sup>6</sup>				
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™ mRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL				
mRNA : Transfection Reagent 混合比	1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4		
ScreenFect™ mRNA Transfection Reagent	0.15 μL	0.2 μL	0.75 μL	1.0 μL	1.5 μL	2.0 μL	3.75 μL	5.0 μL
Dilution Buffer for ScreenFect™ mRNA	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL				
mRNA (0.1-2.5 μg / μL)	50 ng	250 ng	500 ng	1250 ng				
SFA P-reagent (2μL / μg mRNA)	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL				
希釈済み mRNA (+SFA P-reagent)	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL				
希釈済み ScreenFect™ mRNA Transfection Reagent	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL				
<b>最終組成 [ /well ]</b>	<b>96-well</b>	<b>24-well</b>	<b>12-well</b>	<b>6-well</b>				
mRNA-lipid complex 量	10 μL	50 μL	100 μL	250 μL				
mRNA 量	50 ng	250 ng	500 ng	1250 ng				
SFA P-reagent 量	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL				
ScreenFect™ mRNA Transfection Reagent 量	0.15 or 0.2 μL	0.75 or 1.0 μL	1.5 or 2.0 μL	3.75 or 5.0 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。