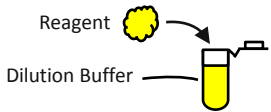
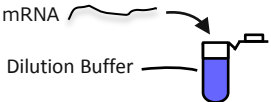
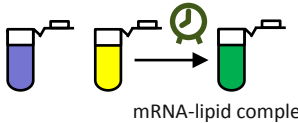

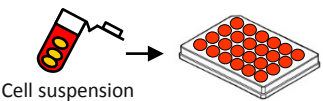
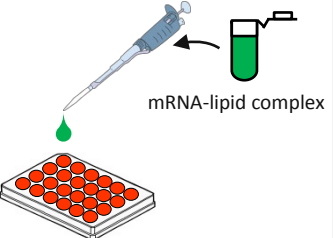
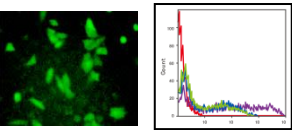


1-Step法 (リバーストランスフェクション法)

| 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混合する。</p> |
| |  <p>mRNA Dilution Buffer</p> | <p>Dilution Bufferに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™ A plus Reagentと希釈済みmRNA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> |

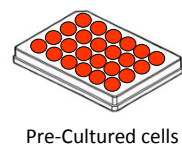
| プロトコール 詳細 | コンポーネント | | | | | | | |
|--|---------------------------|--------|---------------------------|--------|---------------------------|--------|----------------------------|--------|
| | 96-well | | 24-well | | 12-well | | 6-well | |
| Dilution Buffer for ScreenFect™ A plus | 5 µL | | 25 µL | | 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™ A plus Transfection Reagent | 0.15µL | 0.2 µL | 0.75µL | 1.0 µL | 1.5µL | 2.0 µL | 3.75µL | 5.0 µL |
| Dilution Buffer for ScreenFect™ A plus | 5 µL | | 25 µL | | 50 µL | | 125 µL | |
| mRNA (0.1-2.5 µg / µL) | 50 ng | | 250 ng | | 500 ng | | 1250 ng | |
| 希釈済み mRNA | 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 | |
| mRNA-lipid complex 量 | 10 µL | | 50 µL | | 100 µL | | 250 µL | |
| mRNA 量 | 50 ng | | 250 ng | | 500 ng | | 1250 ng | |
| ScreenFect™ A plus 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。 | | | | | | | | |

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

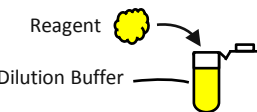
プロトコール 詳細



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。

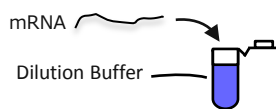
| コンポーネント | 96-well | 24-well | 12-well | 6-well |
|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| 接着細胞 or 浮遊細胞 | $1.0-4.0 \times 10^4$ | $0.5-2.0 \times 10^5$ | $1.0-4.0 \times 10^5$ | $0.25-1.0 \times 10^6$ |

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。



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に混合する。

| | | | | | | | | |
|---|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| Dilution Buffer for ScreenFect™ A plus | 5 μ L | | 25 μ L | | 50 μ L | | 125 μ L | |
| mRNA : Transfection Reagent 混合比 | 1 : 3 | 1 : 4 | 1 : 3 | 1 : 4 | 1 : 3 | 1 : 4 | 1 : 3 | 1 : 4 |
| ScreenFect™ A plus Transfection Reagent | 0.15 μ L | 0.2 μ L | 0.75 μ L | 1.0 μ L | 1.5 μ L | 2.0 μ L | 3.75 μ L | 5.0 μ L |



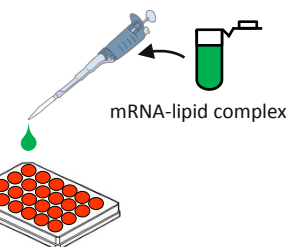
Dilution BufferにmRNAを添加する。
十分に混合する。

| | | | | | | | | |
|--|-----------|--|------------|--|------------|--|-------------|--|
| Dilution Buffer for ScreenFect™ A plus | 5 μ L | | 25 μ L | | 50 μ L | | 125 μ L | |
| mRNA (0.1-2.5 μ g / μ L) | 50 ng | | 250 ng | | 500 ng | | 1250 ng | |



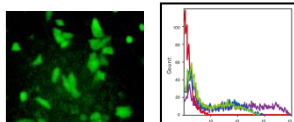
希釈済みScreenFect™ A plus Reagentと希釈済みmRNA溶液を混合する。
5分以上室温でインキュベートする。*2
*2 推奨時間: 15~20分

| | | | | | | | | |
|--|-----------|--|------------|--|------------|--|-------------|--|
| 希釈済み mRNA | 5 μ L | | 25 μ L | | 50 μ L | | 125 μ L | |
| 希釈済み ScreenFect™ A plus Transfection Reagent | 5 μ L | | 25 μ L | | 50 μ L | | 125 μ L | |



mRNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。

| 最終組成 [/well] | 96-well | 24-well | 12-well | 6-well |
|---|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| mRNA-lipid complex 量 | 10 μ L | 50 μ L | 100 μ L | 250 μ L |
| mRNA 量 | 50 ng | 250 ng | 500 ng | 1250 ng |
| ScreenFect™ A plus Transfection Reagent 量 | 0.15 or 0.2 μ L | 0.75 or 1.0 μ L | 1.5 or 2.0 μ L | 3.75 or 5.0 μ L |
| 培地量 | 100 μ L | 500 μ L | 1000 μ L | 2000 μ L |



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。

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。