

1-Step法 (リバーストランスフェクション法)

時間

実験工程

プロトコル 詳細

1

Reagent
Dilution Buffer

SFA P-reagent
mRNA
Dilution Buffer

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。

Dilution BufferにSFA P-reagentとmRNAを添加する。十分に混合する。

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
ScreenFect™ A plus Transfection Reagent	0.15 µL	0.2 µL	0.75 µL	1.0 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
SFA P-reagent (2µL / µg mRNA)	0.1 µL	0.5 µL	1.0 µL	2.5 µL

2

mRNA-lipid complex

希釈済みScreenFect™ A plus 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

希釈済み mRNA (+SFA P-reagent)	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

3

Cultured cells

トランスフェクションに必要な細胞を用意する。

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
--------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	----------------------------

4

Cell suspension

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。

細胞剥離 (Trypsin or Accutase®)

5

mRNA-lipid complex

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。

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™ 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

6

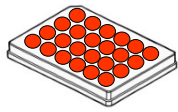
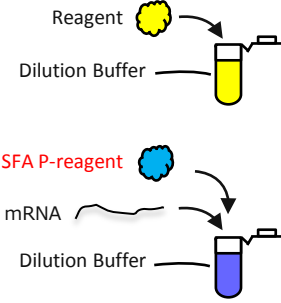

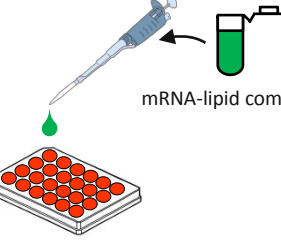
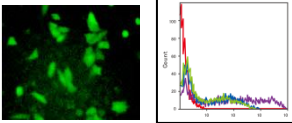
Day 1 ~

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。

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

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  Reagent Dilution Buffer SFA P-reagent mRNA Dilution Buffer	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にSFA P-reagentとmRNAを添加する。十分に混合する。
3 Day 1  mRNA-lipid complex	希釈済みScreenFect™ A plus 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
4  mRNA-lipid complex	mRNA-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					
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 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	1 : 3 1 : 4
ScreenFect™ A plus 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™ 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
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™ A plus Transfection Reagent		5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
最終組成 [/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™ 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。