

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

プロトコール 詳細

1

Reagent
Dilution Buffer

SFA P-reagent
Plasmid DNA
Dilution Buffer

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。

Dilution BufferにSFA P-reagentとDNA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	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
DNA : Transfection Reagent 混合比	1 : 5	1 : 6	1 : 5	1 : 6
ScreenFect™ A Transfection Reagent	0.25 μL	0.3 μL	1.25 μL	1.5 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
SFA P-reagent (2 μL / μg DNA)	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL

2

DNA-lipid complex

希釈済みScreenFect™ A Reagentと希釈済みDNA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 DNA (+SFA P-reagent)	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
希釈済み ScreenFect™ A 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	$1.0-4.0 \times 10^4$	$0.5-2.0 \times 10^5$	$1.0-4.0 \times 10^5$	$0.25-1.0 \times 10^6$
--------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	------------------------

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

DNA-lipid complex

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。

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
SFA P-reagent 量	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
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

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 <https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01505.html>

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。

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

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。

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。

2

Reagent
Dilution Buffer

SFA P-reagent
Plasmid DNA
Dilution Buffer

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に混合する。

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

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	
SFA P-reagent (2 μL / μg DNA)	0.1 μL		0.5 μL		1.0 μL		2.5 μL	

3 Day 1

DNA-lipid complex

希釈済みScreenFect™ A Reagentと希釈済みDNA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

希釈済み DNA (+SFA P-reagent)	5 μL		25 μL		50 μL		125 μL	
希釈済み ScreenFect™ A Transfection Reagent	5 μL		25 μL		50 μL		125 μL	

4

DNA-lipid complex

DNA-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
DNA-lipid complex 量	10 μL	50 μL	100 μL	250 μL
DNA 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 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

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。

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 <https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01505.html>