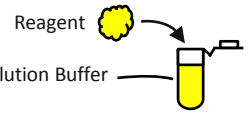
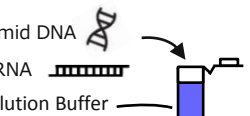


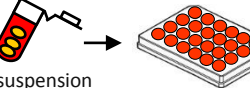
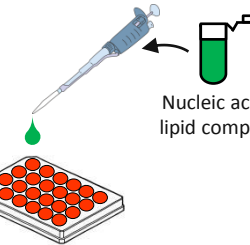
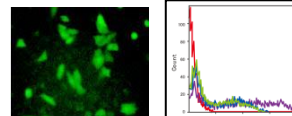
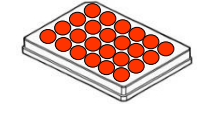
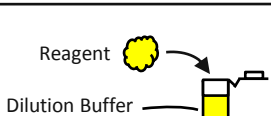
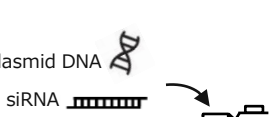

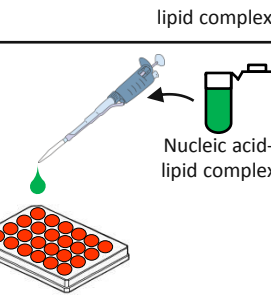
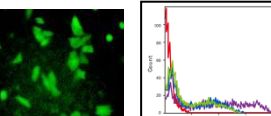


ScreenFect™A トランスフェクション プロトコール

細胞によってDNA/siRNA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
Day 0	1	<div>Reagent Dilution Buffer</div>  <p>Dilution BufferにScreenFect™A Reagent※1 を添加する。 十分に混合する。 ※1 添加前にボルテックスミキサーで十分混合する。</p>
	2	<div>Plasmid DNA siRNA Dilution Buffer</div>  <p>Dilution BufferにNucleic acid (DNA, siRNA)を添加する。 十分に混合する。</p>
	3	<div>Nucleic acid-lipid complex</div>  <p>希釈済みScreenFect™A Reagent と希釈済みNucleic acid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>
	4	<div>Cultured cells</div>  <p>トランスフェクションに必要な細胞を用意する。</p>
	5	<div>Cell suspension</div>  <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>
	6	<div>Nucleic acid-lipid complex</div>  <p>工程 2 で調製したNucleic acid-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>
Day 1 ~		<div>Fluorescence observation and flow cytometry analysis.</div>  <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>

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
Day 0	1	<div>Pre-Cultured cells</div>  <p>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。</p>
	2	<div>Reagent Dilution Buffer</div>  <p>Dilution BufferにScreenFect™A Reagent※1 を添加する。 十分に混合する。 ※1 添加前にボルテックスミキサーで十分混合する。</p>
Day 1	3	<div>Plasmid DNA siRNA Dilution Buffer</div>  <p>Dilution BufferにNucleic acid (DNA, siRNA)を添加する。 十分に混合する。</p>
	4	<div>Nucleic acid-lipid complex</div>  <p>希釈済みScreenFect™A Reagent と希釈済みNucleic acid溶液を混合する。 5分間以上室温でインキュベート※2する。 ※2 推奨時間：15～20分</p>
	5	<div>Nucleic acid-lipid complex</div>  <p>Nucleic acid-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。</p>
Day 2 ~		<div>Fluorescence observation and flow cytometry analysis.</div>  <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>