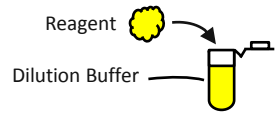
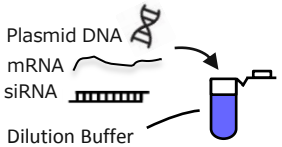
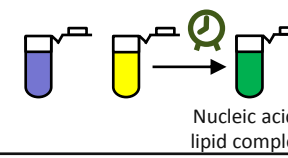
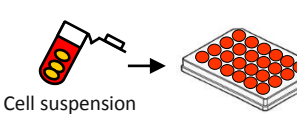
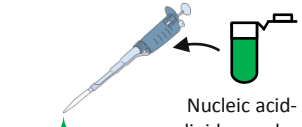
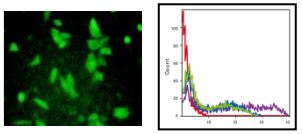
ScreenFect™A *plus* トランスフェクション プロトコール

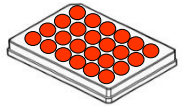
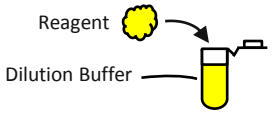
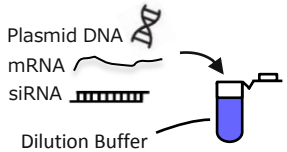
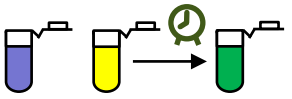
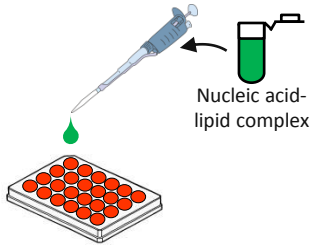
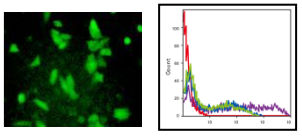
細胞によってDNA/mRNA/siRNAとトランスフェクション試薬の最適な混合比が異なります。数パターンの混合比を検討のうえ、最適な混合比の検証を推奨いたします。

1-Step法 （リバーストランスフェクション法）

	時間	実験工程
1		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。
2		Dilution BufferにNucleic acid(DNA, mRNA or siRNA)を添加する。 十分に混合する。
3		希釈済みScreenFect™A *plus* 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
4		トランスフェクションに必要な細胞を用意する。
5		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。
6		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。
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。

Day 0

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		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		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Nucleic acid(DNA, mRNA or siRNA)を添加する。 十分に混合する。
3		希釈済みScreenFect™A *plus* 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
4		Nucleic acid-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。
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。

Day 0　Day 1