

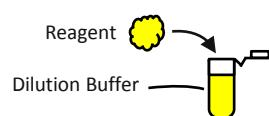
## ScreenFect™A plus トランスフェクションプロトコール

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（リバーストランスクレッショング法）

## 時間

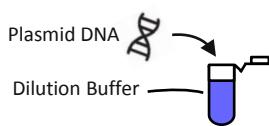
1



## 実験工程

Dilution BufferにScreenFect™A plus Reagent※\*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DNAを添加する。  
十分に混合する。

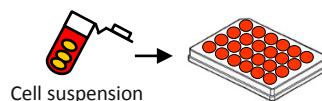
Day 0

3



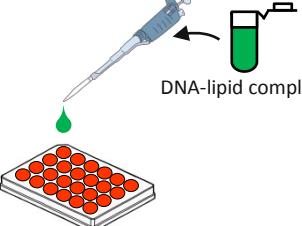
トランスフェクションに必要な細胞を用意する。

4



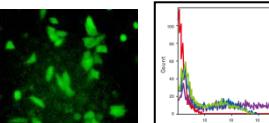
トリプシンやAccutase®をもちいて細胞を剥離し、細胞懸濁液を調製する。  
ウェルプレートや培養シャーレに必要細胞数播く。

5



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。

6



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。

## プロトコール 詳細

## コンポーネント

Dilution Buffer for ScreenFect™A plus

## 96-well

## 24-well

## 12-well

## 6-well

5 µL 25 µL 50 µL 125 µL

DNA : 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 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

DNA (0.1-2.5 µg / µL)

50 ng 250 ng 500 ng 1250 ng

希釈済み DNA

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<sup>4</sup> 0.5-2.0 × 10<sup>5</sup> 1.0-4.0 × 10<sup>5</sup> 0.25-1.0 × 10<sup>6</sup>

細胞剥離 (Trypsin or Accutase®)

## 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

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

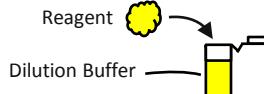
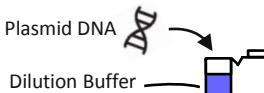
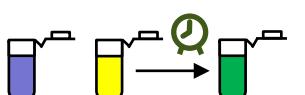
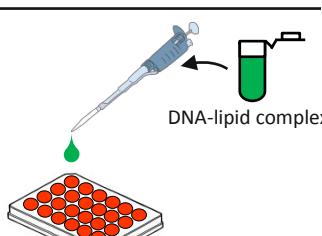
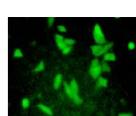
1-3 日間、37°Cで細胞を培養し、目的に応じてアッセイを行う。

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

#### 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とトランسفエ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
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	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。
3 Day 1	 Plasmid DNA → Dilution Buffer	Dilution BufferにDNAを添加する。 十分に混合する。
4	 DNA-lipid complex	希釈済みScreenFect™A plus Reagentと希釈済みDNA溶液を混合する。 5分間以上室温でインキュベートする。 ※2 推奨時間:15~20分
5 Day 2~	 DNA-lipid complex	DNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。
		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://screenfetc.jp>