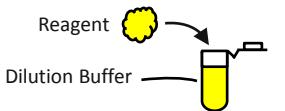
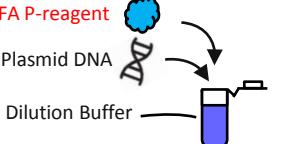
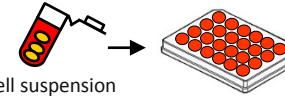
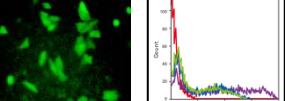


ScreenFectTMA トランスフェクション プロトコール

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	実験工程
1	 <p>Dilution BufferにScreenFectTMA 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。</p>  <p>Dilution BufferにSFA P-reagentとDNAを添加する。十分に混合する。</p>
2	 <p>希釈済みScreenFectTMA 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込みが完了するまでインキュベート可</p> <p>DNA-lipid complex</p>
3 Day 0	 <p>Cultured cells</p> <p>トランスフェクションに必要な細胞を用意する。</p>
4	 <p>トリプシンやAccutase[®]をもじいて細胞を剥離し、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> <p>Cell suspension</p>
5	 <p>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。</p> <p>DNA-lipid complex</p>
6 Day 1~	 <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>

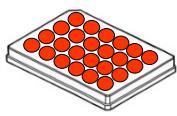
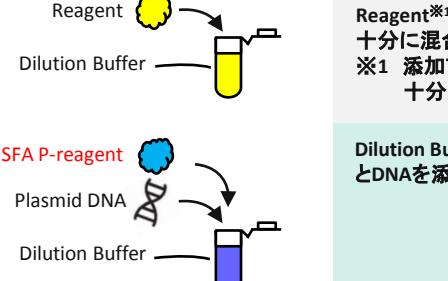
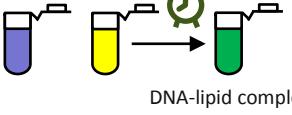
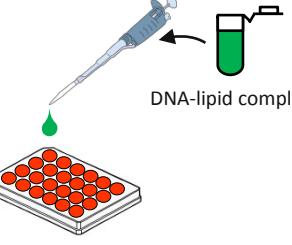
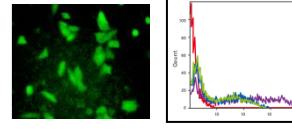
プロトコール 詳細	96-well	24-well	12-well	6-well
コンポーネント				
Dilution Buffer for ScreenFect TM A	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
DNA : Transfection Reagent 混合比	1:5	1:6	1:5	1:6
ScreenFect TM A Transfection Reagent	0.25μL	0.3 μL	1.25μL	1.5 μL
Dilution Buffer for ScreenFect TM A	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
DNA (0.1-2.5 μg / μL)	50 ng	250 ng	500 ng	1250 ng
SFA P-reagent (2μL / μg DNA)	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
希釈済み DNA (+SFA P-reagent)	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
希釈済み ScreenFect TM A Transfection Reagent	5 μL	25 μL	50 μL	125 μL
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
SFA P-reagent 量	0.1 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
ScreenFect TM 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
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 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
Day 0	 <p>Pre-Cultured cells</p> <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	 <p>Reagent Dilution Buffer</p> <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> <p>SFA P-reagent Plasmid DNA Dilution Buffer</p> <p>Dilution Buffer に SFA P-reagent とDNAを添加する。十分に混合する。</p>
3 Day 1	 <p>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</p> <p>DNA-lipid complex</p>
4	 <p>DNA-lipid complex</p> <p>DNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。</p>
5 Day 2~	 <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>

プロトコール 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	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	0.25µL	0.3 µL	1.25µL	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 (2µL / µg DNA)	0.1 µL	0.5 µL	1.0 µL	2.5 µL
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
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
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>