

# ScreenFect™siRNA トランスフェクション プロトコール

細胞によって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。数パターンで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™siRNA 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siRNAを添加する。 十分に混合する。
2	希釈済みScreenFect™siRNA Reagent と希釈済みsiRNA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
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な細胞数播く。
5	工程2で調製したsiRNA-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。

## 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	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™siRNA 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。
3	Dilution BufferにsiRNAを添加する。 十分に混合する。
3 Day 1	希釈済みScreenFect™siRNA Reagent と希釈済みsiRNA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	siRNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。
5	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。