

トランスフェクションプロトコール（96 ウェルプレート用）

必要なもの

無血清培地 Opti-MEM I (Thermo#31985062 など)

細胞の準備（トランスフェクション前日）

接着細胞の場合、トランスフェクション当日に50-80%コンフルエントになるように播種します。
一般的には96 ウェルプレートでは、100 μ Lの培地中に $1-2 \times 10^4$ cells/ウェルが適当量です。

FuGENE® 6 Transfection Reagentの準備（当日）

1. 使用前にFuGENE® 6 Transfection Reagent を室温に戻します。
2. 転倒混和またはボルテックスにより混和します。

細胞へのトランスフェクション

1. 滅菌チューブまたはU 字あるいはV 字ボトムプレートに、あらかじめ室温にした無血清培地 90-98 μ L（最終容量:100 μ L）を加えます。
2. FuGENE® 6 Transfection Reagent : DNA=3:1 (μ L: μ g)の比率の場合、6 μ LのFuGENE® 6 Transfection Reagent を培地に直接加え、すばやく混合します。室温で5 分間インキュベートします。
※注意：FuGENE® 6 Transfection Reagent の原液を、プラスチック側面に触れないようにしてください。
3. 2 μ gのプラスミドDNA (0.2-1.0 μ g/ μ L)を加え、混和します。室温で15 分間インキュベートします。
4. FuGENE® 6 Transfection Reagent/DNA 混合液のうち、2-10 μ Lを、各ウェル（100 μ Lの細胞培養培地あたり）に加えます。ピペッティングまたはプレートシェーカーで混合し、細胞をインキュベータに戻して24-48 時間インキュベートします。
5. レポーター遺伝子に適した方法によりトランスフェクション効率を測定します。
トランジェントトランスフェクションの場合、トランスフェクション後、24-48 時間で測定するのが一般的です。

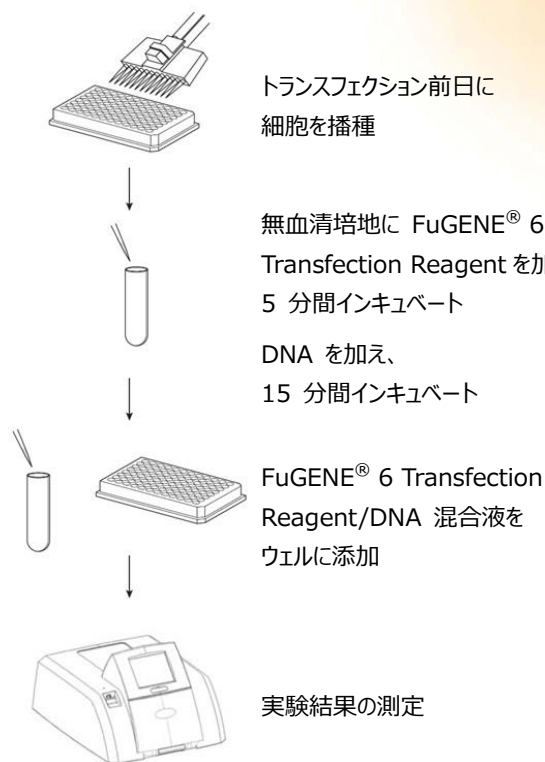


表 1. プレートサイズ別混合比

プレート サイズ	培養面積 (cm ²)*1	面積比	培地量 (mL)	FuGENE/DNA 混合液添加量 (μ L/well)	DNA 量 (μ g/well)	FuGENE 試薬量	
						FuGENE:DNA = 3 : 1	FuGENE:DNA = 4 : 1
96-well	0.32	1X	0.1	5	0.1	0.3	0.4
24-well	1.88	5X	0.5	25	0.5	1.5	2.0
12-well	3.83	10X	1	50	1	3.0	4.0
6-well	9.4	30X	2	100	2	6.0	8.0
35 mm	8	25X	2	100	2	6.0	8.0
60 mm	21	65X	5	250	5	15.0	20.0
100 mm	55	170X	10	500	10	30.0	40.0

1: This information was calculated for Corning® culture dishes.

詳細なプロトコールは製品マニュアル#TM350 をご覧ください。

製品マニュアル#TM350 : <https://www.promega.jp/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/101/fugene-6-transfection-reagent-protocol.pdf>

Q&A : <https://www.promega.co.jp/resources/faq/reporter-signaling/transfection>

