

FuGENE[®] HD Transfection Reagent

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS E2311 AND E2312

Quick
PROTOCOL

トランスフェクションプロトコール (96 ウェルプレート)

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 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、100 μ l の培地中に 1-2 $\times 10^4$ cells/ウェルが適量です。

FuGENE[®] HD Transfection Reagent の準備

1. 使用前に FuGENE[®] HD 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。誤って凍結させ、沈殿が生じた場合は 37°C で短時間温め、沈殿を融解させた後、室温に戻してください。

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。
プラスミド DNA 2 μ g を加え、ボルテックスで混和します。FuGENE[®] HD Transfection Reagent:DNA=3:1 の比率の場合、6 μ l の FuGENE[®] HD Transfection Reagent を※培地に直接加え、すばやく混合します。
※注意: FuGENE[®] HD Transfection Reagent の原液を、チューブまたは U 字あるいは V 字ボトムプレートの側面に触れないようにしてください。
2. FuGENE[®] HD Transfection Reagent/DNA 混合液を、室温で 5-15 分間インキュベートします。
3. 細胞培養培地 100 μ l/ウェルに FuGENE[®] HD Transfection Reagent/DNA 混合液 5 μ l/ウェル (2-10 μ l/ウェルで可変) を加えます。ピペッティングまたはプレートシェーカーで混合します。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。
4. 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。

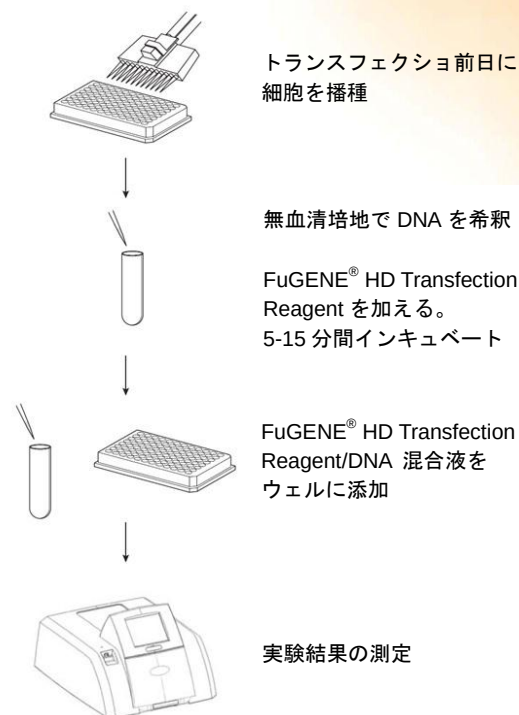


表 1. プレートサイズ別混合比

プレート サイズ	培地量の 目安 (ml)	面積比 ¹	FuGENE/DNA 混合液の添加量 (μ l/well)	DNA量 (μ g/well)	FuGENE試薬量	
					FuGENE : DNA =3 : 1	FuGENE : DNA =4 : 1
96-well	0.1	1X	5	0.1	0.3	0.4
24-well	0.5	5X	25	0.5	1.5	2.0
12-well	1	10X	50	1.0	3.0	4.0
6-well	2	30X	150	3.0	9.0	12.0
35mm	2	25X	125	2.5	7.5	10.0
60mm	5	65X	325	6.5	19.5	26.0
100mm	10	170X	850	17.0	51.0	68.0

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#TM328 をご覧ください。様々な種類の細胞株に対応した条件リストは

[FuGENE[®] HD プロトコールデータベース](#)よりご覧になれます。

オンライン閲覧: http://www.promega.co.jp/Cre_Html.php?pGMPID=100839

Q&A: http://www.promega.co.jp/jp/tech/FAQs/Q&A_fugene6_hd.html

技術的なお問合せは:

e-mail: prometec@jp.promega.com • Tel: 03-3669-7980 • Fax: 03-3669-7982



Promega

Revised 2/12