

LipoTrust™ EX Gene

■内容

LipoTrust™ EX Gene

■容量・保存

凍結乾燥品 1ml 用（カチオニック脂質 1μmol 含有）×1本 2～8℃保存

■特徴

LipoTrust™ EX Gene はカチオニック脂質をベースに構成されたカチオニックリポソームからなる哺乳類細胞への核酸導入試薬であり、特にプラスミド DNA の導入に適しています。

■使用手順

LipoTrust™ EX Gene の復水

1. バイアル蓋を矢印の方向へ押し上げてアルミキャップをねじ切り、ゴム栓を開けます。このときアルミでケガをしないようご注意ください。
2. 滅菌蒸留水（Nuclease free 水が望ましい）を 1ml 加え、軽く振って LipoTrust™ EX Gene を復水し、室温で数分間放置して下さい。これで準備完了です。復水した LipoTrust™ EX Gene は 2～8℃で保管し、毎回の実験に用いて下さい。

トランスフェクション

本手順書は 24 ウェルプレートを用い、プラスミド DNA を哺乳類細胞へトランスフェクションさせるためのもの（1well あたり調製用）です。その他のプレート・ディッシュで試験を行われる場合には、ご使用になるカルチャーウェアに従いスケールアップまたはスケールダウンされることをお勧めいたします。プレーティング時の培養液量・トランスフェクション時の試薬及びプラスミド DNA 量は、下の「添加量目安」をご参照下さい。

ステップ1. 細胞のプレーティング

トランスフェクションの前日、トランスフェクション時に 80～90%コンフルエントになるように細胞のプレーティングを行い、通常の培養条件で約 1 日培養して下さい。（ex. HeLa cell : 4～8×10⁴ cells/well）

注）・通常の増殖用培地（ただし抗生物質を含まない）をご使用下さい。

・ここでの細胞数は、細胞の種類及びトランスフェクション後の培養時間により調節して下さい。

ステップ2. Transfection complex 形成

A) 50 μl の無血清培地に プラスミド DNA を 0.8μg 加え、十分に攪拌して下さい。

B) 50 μl の無血清培地に LipoTrust™ EX Gene を 2μl 加え、緩やかかつ十分に攪拌して下さい。

C) A) と B) を混合し、約 20 分室温で放置して Transfection complex を形成させます。

注）・A) に LipoTrust™ EX Gene、もしくは B) にプラスミド DNA を直接加えることもできます。

・A) ～ C) の調製にはマイクロチューブや 96 ウェルプレート（丸底）等をご使用下さい。

ステップ3. Transfection complex の細胞への添加、及び培養

細胞と培養液が入っているウェルへ C) を全量、直接添加し、均一になるよう緩やかに揺らして下さい。

通常の培養条件で 18～48 時間培養して下さい。

注）・血清非存在下にてトランスフェクションを行う場合は、培養液を無血清培地に交換したのち C) を添加して下さい。その後 1～5 時間培養し、増殖培地を添加もしくは交換します。

・最適な培養時間は細胞、遺伝子、解析法など諸条件によって異なります。予め条件設定を行う事をお勧めいたします。

添加量目安（1well あたり）

ステップ プレート /ディッシュ	1 1well あたり 培養液量	2 - A)		2 - B)	
		プラスミド DNA 希釈用 無血清培地	プラスミド DNA*	LipoTrust™ EX Gene 希釈用 無血清培地	LipoTrust™ EX Gene*
96 well	100 μl	25 μl	0.2 μg	25 μl	0.5 μl
48 well	200 μl	50 μl	0.4 μg	50 μl	1 μl
24 well	500 μl	50 μl	0.8 μg	50 μl	2 μl
12 well	1ml	100 μl	1.6 μg	100 μl	4 μl
6 well	2.5 ml	250 μl	4 μg	250 μl	10 μl
10 cm	15 ml	1.5 ml	24 μg	1.5 ml	60 μl

* プラスミド DNA、LipoTrust™ EX Gene の添加量は細胞の種類や状態によって調節することをお勧めいたします。特に LipoTrust™ EX Gene は 1/4～2 倍量程度増減させ、最も導入効果が高くなる添加量を選ぶことでさらに効率的なトランスフェクションが期待できます。

■使用上の注意

- ・ 復水した LipoTrust™ EX Gene は 2~8℃の冷暗所にて保存して下さい。
- ・ LipoTrust™ EX Gene は血清存在下でも十分な導入効果が得られますが、Transfection complex 形成段階は無血清培地を用いて下さい。
- ・ 細胞は生存率の高いヘルシーな細胞をお使い下さい。
- ・ 導入を行う際の培養は抗生物質を含まない状態で行って下さい。
- ・ 導入させるプラスミド DNA は精製度の高いものをご使用下さい。
- ・ 細胞の種類、実験条件により最適な LipoTrust™ EX Gene ・ プラスミド DNA の添加量は異なります。LipoTrust™ EX Gene ・ プラスミド DNA とともに推奨量の 1/4~2 倍程度の幅をもって条件設定を行うことをお勧めいたします。
- ・ 本品は試験研究を目的に販売いたしております。その他の目的（医療、臨床診断、食品、化粧品、家庭用品等）には絶対に使用しないようお願いいたします。またヒトへの投与は絶対におやめ下さい。

製品に関するお問い合わせはこちらまで

北海道システム・サイエンス株式会社

〒001-0932 札幌市北区新川西 2 条 1 丁目 2-1

TEL:011-768-5901 FAX:011-768-5951

URL:<http://www.hssnet.co.jp>

- ・ 製品の外観は予告無く変更することがあります。
- ・ 箱の中敷は取り出してそのままバイアル立てとしてご使用いただけます。

