



LipoTrust™ EX Oligo <in vitro>

■内容

LipoTrust™ EX Oligo <in vitro>

■容量・保存

凍結乾燥品 1ml 用(カチオン性脂質 1μmol 含有) × 1 本 2~8℃保存

■特徴

LipoTrust™ EX Oligo <in vitro> はカチオン性脂質をベースに構成されたカチオン性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 siRNA、アンチセンス DNA、miRNA などの short oligonucleotides の導入に適しています。

また凍結乾燥品であるため、試薬溶液と核酸溶液を混合して使用する「Lipoplex Type」と、空の LipoTrust™ EX Oligo <in vitro> を核酸溶液で復水することで核酸を効率的に保持しながらリポソーム膜を再構成させる「Coating Type」を用途によって選択することが可能です。

■使用手順- **Lipoplex Type** : Nuclease free 水で復水した試薬溶液と核酸溶液を混合して使用する一般的な方法

LipoTrust™ EX Oligo の復水

1. パ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. Nuclease free 水を 1ml 加え、軽く振って LipoTrust™ EX Oligo 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。この復水した LipoTrust™ EX Oligo 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 の 1well 中にて、哺乳類細胞へ siRNA、アンチセンス DNA、miRNA など（以下「核酸」）をトランスフェクションさせるためのものです。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核酸量は、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 60~80%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 : 2~4 × 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、及び細胞への添加

A) 50 μl の無血清培地に 核酸を 20pmol 加え、十分に攪拌して下さい。

B) 2μl の LipoTrust™ EX Oligo を加え、チューブの底を指で軽くはじき、緩やか且つ十分に攪拌して下さい。
(ボルテックスで 5~10 秒程度)

C) 15~20 分室温で放置し、Transfection complex を形成させます。

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

注) ・ 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. 培養

通常の培養条件で 24~72 時間培養して下さい。

注) 最適な培養時間は細胞、標的とする遺伝子、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		2 - A)		2 - B)
	1well あたり 培養液量	LipoTrust™ EX Oligo/核酸 希釈用	無血清培地	核酸*1	LipoTrust™ EX Oligo*1
96 well	100 μl	10 μl		4pmol / 60ng*2	0.5 μl
48 well	200 μl	20 μl		8pmol / 120ng	1 μl
24 well	500 μl	50 μl		20pmol / 300ng	2 μl
12 well	1 ml	100 μl		40pmol / 600ng	4 μl
6 well	2.5 ml	250 μl		100pmol / 1.6μg	10 μl
10 cm	15 ml	1.5 ml		600pmol / 9.2μg	60 μl

*1 核酸、LipoTrust™ EX Oligo 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 Oligo 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。

*2 導入する核酸が 21mer、2 本鎖 RNA の場合のおよその換算値です。

・プレーティングとトランスフェクションを同時に行う方法でも使用可能です。その場合には、プレーティング時の細胞数を多めに設定することをお勧めします。

- 使用手順- Coating Type : 核酸溶液で LipoTrust™ EX Oligo を復水する方法
 ・1バイアルを1度で使い切る場合、特に有用です。

LipoTrust™ EX Oligo の復水及びトランスフェクション

本手順書は 24 ウェルプレート の 1well 中にて、哺乳類細胞へ siRNA、アンチセンス DNA、miRNA などの short oligonucleotides をトランスフェクションさせるためのものです。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、お使いの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核酸量は、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 60~80%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 : $2\sim 4 \times 10^4$ cells/well)

注) ・血清を含む培地でトランスフェクションできます。

・抗生物質を含まない培地をご使用下さい。

・ここでの細胞数は、トランスフェクションさせる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. LipoTrust™ EX Oligo の復水~Transfection complex 作製、及び細胞への添加

A) LipoTrust™ EX Oligo が入ったバイアルの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。

B) 20 μ M の核酸溶液を 1ml 加え、軽く振って LipoTrust™ EX Oligo を復水して下さい。この復水した溶液はその日のうちに使い切ることをお勧めいたします。

C) 15~20 分室温で放置して下さい。

D) 250 μ l の無血清培地に 2 μ l の C) を加えてチューブの底を指で軽くはじき、緩やか且つ十分に攪拌して下さい。

E) 250 μ l の 20%血清入り培地を加え、十分に混合して下さい。

F) 細胞培養中のプレートから培地を除去し、E) と交換して下さい。

ステップ 3. 培養

通常の培養条件で 24~72 時間培養して下さい。

注) 最適な培養時間は細胞、標的とする遺伝子、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、20 μ M^{*3} 核酸溶液で復水の場合)

ステップ	1	2 - D)		2 - E)
プレート / ディッシュ	1well あたり 培養液量	LipoTrust™ EX Oligo/核酸 希釈用 無血清培地	LipoTrust™ EX Oligo ^{*3} (核酸溶液にて復水済)	20%血清入り培地
96well	100 μ l	50 μ l	0.5 μ l	50 μ l
48well	200 μ l	100 μ l	1 μ l	100 μ l
24well	500 μ l	250 μ l	2 μ l	250 μ l
12well	1ml	500 μ l	4 μ l	500 μ l
6well	2.5ml	1.3 ml	10 μ l	1.3 ml
10 cm	15 ml	7.5 ml	60 μ l	7.5 ml

*3 LipoTrust™ EX Oligo 添加量を 1/4~2 倍程度増減させ、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。その際は復水させる核酸溶液の濃度を調節して下さい。

(例 : LipoTrust™ EX Oligo 添加量 1/4 倍 → 核酸溶液濃度 80 μ M 、LipoTrust™ EX Oligo 添加量 2 倍 → 核酸溶液濃度 10 μ M)

■使用上の注意

- ・ LipoTrust™ EX Oligo は血清添加培地 (FBS10%程度) でも十分な導入効果が得られますが、細胞に添加する前の Transfection complex 形成段階では無血清のものを用いて下さい。
- ・ 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。
- ・ 導入させる核酸は Quality 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 Oligo ・核酸の添加量は異なります。LipoTrust™ EX Oligo ・核酸ともに推奨量の 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

E-mail: bio@hssnet.co.jp

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。
- ・ 箱の中敷きを取り出してそのままバイアル立てとしてご使用ください。

