

1. 使用機器・試薬類

| 製品名 | 製造販売 | カタログ番号 | 規格/容量 |
|---|--------------------------|----------|--------|
| Opti-MEM | Thermo Fisher Scientific | 31985062 | 100 mL |
| Lipofectamine 3000 Transfection Reagent | Thermo Fisher Scientific | L3000001 | 0.1 mL |

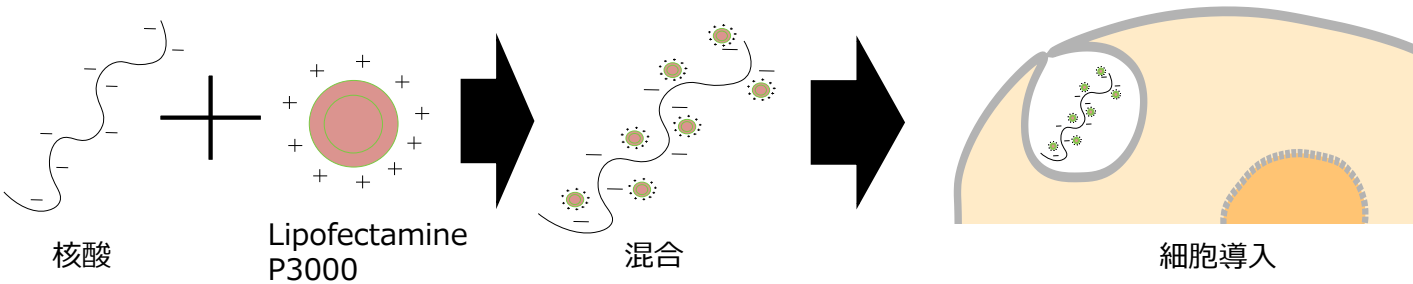
2. 実施プロトコル*

下記OLP2の条件

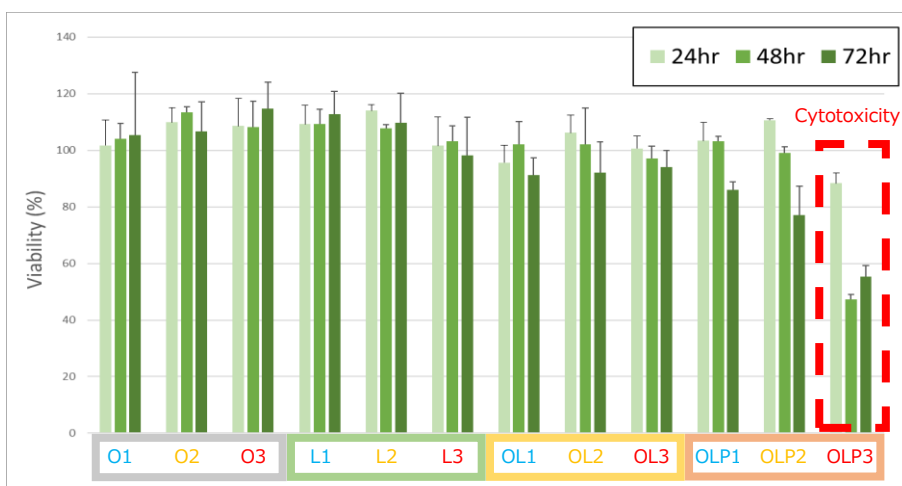
*Lipofectamine3000のプロトコルを参考に作成

https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/lipofectamine3000_protocol.pdf

- Opti-MEM 5 μ Lと Lipofectamine 3000 0.3 μ Lの割合で混合する。(混合液①)
- 2~3分間軽くボルテックスをおこなう。
- Opti-MEM 5 μ Lと核酸 1 μ Lと P3000 0.3 μ Lの割合で混合する。(混合液②)
- 混合液②に混合液①を5 μ L添加し(混合液③)、10~15分間室温でインキュベートする。
- 培養培地(90 μ L)に混合液③を10 μ Lずつ加える。(10倍希釈、核酸100倍希釈、総量100 μ L)



3. 3D-RPTEC®への導入事例 (導入試薬のみの毒性検討結果)



実際の添加量 培地90 μ Lに追加

O1: Opti-MEM Low (3 μ L)
O2: Opti-MEM Middle (10 μ L)
O3: Opti-MEM High (30 μ L)

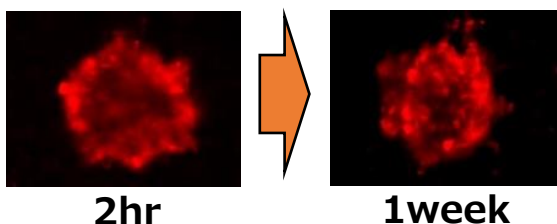
L1: Lipofectamine Low (0.1 μ L)
L2: Lipofectamine Middle (0.3 μ L)
L3: Lipofectamine High (1 μ L)

OL1: Opti-MEM Low (3 μ L)
+Lipofectamine Low (0.1 μ L)
OL2: Opti-MEM Middle (10 μ L)
+Lipofectamine Middle (0.3 μ L)
OL3: Opti-MEM High (30 μ L)
+Lipofectamine High (1 μ L)

OLP1: Opti-MEM Low (3 μ L)
+Lipofectamine Low (0.1 μ L)
+P3000 Low (0.1 μ L)
OLP2: Opti-MEM Middle (10 μ L)
+Lipofectamine Middle (0.3 μ L)
+P3000 Middle (0.3 μ L)
OLP3: Opti-MEM High (30 μ L)
+Lipofectamine High (1 μ L)
+P3000 (0.3 μ L)
※ Cytotoxicity

3D-RPTEC

核酸(Cy5を付属)
+Lipofectamine
+P3000
OLP2の条件
24hr後wash out



短時間かつ細胞毒性がない条件で、3D-RPTEC®に核酸が導入可能です。