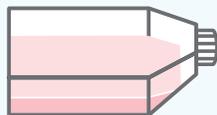


4D-Nucleofector™は
トランスフェクションが
難しい細胞でも簡単に短時間で
遺伝子導入ができますよ。
ポイントを押さえて、
Nucleofection™を
成功させましょう。

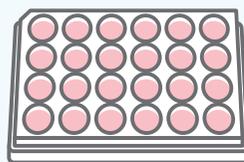
① 細胞の準備

接着細胞
70-85%の細胞密度
浮遊細胞
7~9 x 10⁵ cells/ml



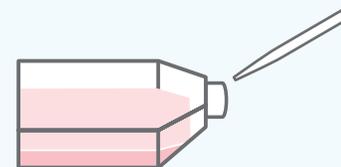
遺伝子導入 2~3 日前に継代した
対数増殖期の細胞を使用して下さい。

② 播種プレートの準備



遺伝子導入後に播種するプレートにあらかじめ
必要量の培地を加えておき、CO₂ インキュベ
ータ内で平衡化しておくようにして下さい。

③ トリプシン処理



接着細胞の場合は、トリプシン処理により細胞剥
離を行ってください。最小限のピペッティングで
懸濁し、細胞をカウントします。遺伝子導入に必
要なサンプル分の細胞を回収し、④遠心操作に移
ります。

④ 遠心操作

Nucleofection™ における
遠心操作は培地除去時
1 回のみ行って下さい。
低速で細胞を沈殿させ
て下さい。

必要な細胞数をチューブ
に入れて遠心 (室温)

遠心速度例:

細胞株の場合

90G 10 分間

神経細胞の場合

80G 5 分間

血球細胞の場合

200G 10 分間

⑤ Nucleofector™ 試薬調製

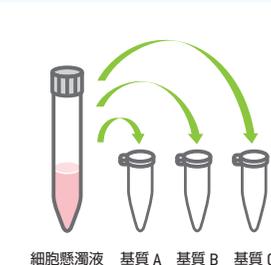
Nucleofector™ Solution と Supplement を 4.5:1 の割合で混合
(調製後の試薬は冷蔵で 3 か月間安定です)

- 82 μL : 18 μL / 100 μL cuvette
- 16.4 μL : 3.6 μL / 20 μL strip



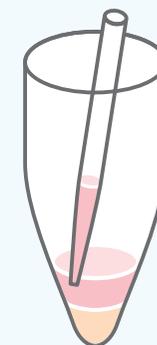
細胞株導入時に必要な細胞数、基質量	100 μL cuvette	20 μL strip
細胞数	1x10 ⁶ cells	2x10 ⁵ cells
pmaxGFP	2 μg	0.4 μg
plasmid DNA	2 μg	0.2-1 μg
siRNA	30-300 nM	30-300 nM
	3-30 pmol/sample	0.6-6 pmol/sample

*初代細胞の場合、細胞数は細胞タイプにより異なります



導入基質が複数ある場合は、試薬
(Solution&Supplement) と細胞を
懸濁後、個別のチューブに分けた後
に、それぞれの基質を添加すると
便利です。

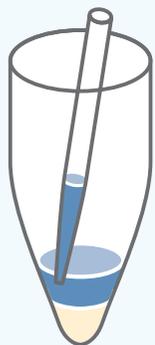
⑥ 培地除去



* 細胞を吸引しないように
ご注意ください

アスピレーターで培地除去。その後必要
に応じてピペット操作で完全に培地を
除去するようにして下さい。

7 試薬添加



最小限のピペティングで、細胞と試薬を懸濁するようにして下さい。

⑤で調製した Nucleofector™ 試薬で細胞を懸濁します。

8 cuvette/strip へ分注

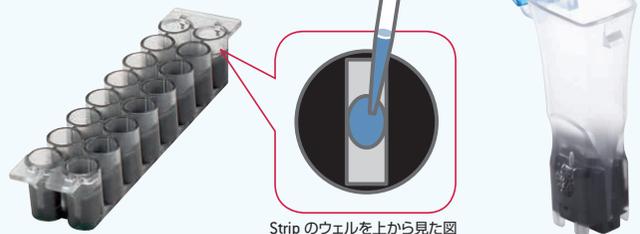
cuvette の場合

底部の導電性ポリマー（黒）の溝に細胞懸濁液 100 μ l（最大 110 μ l まで）を分注して下さい。

strip の場合

ウェル中央の溝に細胞懸濁液 20 μ l（最大 22 μ l まで）を分注して下さい。

泡が入らないように分注して下さい。



Strip のウェルを上から見た図

9 Nucleofection™ の実行 10 インキュベーション

推奨プログラムで Nucleofection™ を実行します。20ul strip は左図のようにプラットフォームにセットして下さい。



細胞株の場合

Nucleofection™ 後、10 分間クリーンベンチ内で静置して下さい。

初代細胞の場合

細胞タイプによって、すぐに STEP11 に移るか、または 10 分間静置して下さい。詳細はテクニカルサポートまでお問合せ下さい。

11 プレートへ播種

cuvette の場合

500 μ l 培地を cuvette に添加

strip の場合

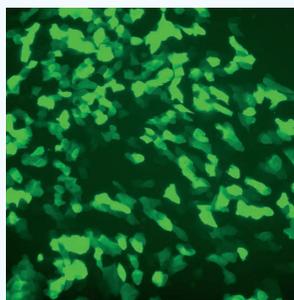
80 μ l 培地を strip に添加



あらかじめ平衡化しておいた培地を一旦、cuvette/strip に分注し、細胞懸濁した後にプレートに戻して下さい。

* cuvette からの懸濁液回収 / 播種はキット添付のスポイトをご利用下さい。

12 細胞観察



Nucleofection™ 後、24 時間後などで細胞観察

* Nucleofection™ 後、導入基質は核内に直接導入され、直ぐに転写翻訳が開始されます。pmaxGFP の場合は、早ければ 6 時間後には観察可能となります。

マルチウェルプレート	ウェル当たりの効果的な増殖面積	培養に必要な培地量 (ウェル当たり/全量)	10,000 cells/cm ² にするために最初に必要な細胞数
6 ウェル	9.60 cm ²	2 ml / 12 ml	96,000
12 ウェル	3.80 cm ²	1 ml / 12 ml	38,000
24 ウェル	2.00 cm ²	0.5 ml / 12 ml	20,000
48 ウェル	0.75 cm ²	150 μ l / 7 ml	7,500
96 ウェル	0.32 cm ²	100 μ l / 10 ml	3,200

ウェルプレート選択ガイド

* Nucleofection™ 時の細胞ダメージを考慮して、通常より細胞を多めに播種して下さい。

ロンザジャパン株式会社

バイオサイエンス事業部

〒104-6591 東京都中央区明石町8-1 聖路加タワー 39階

セールス TEL: 03-6264-0660
E-mail: bioscience.sales.jp@lonza.com

技術サポート TEL: 03-6264-0663
E-mail: bioscience.technicalsupport.jp@lonza.com

受注・在庫照会 TEL: 03-6264-0620

<http://www.lonzabio.jp>