

## 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

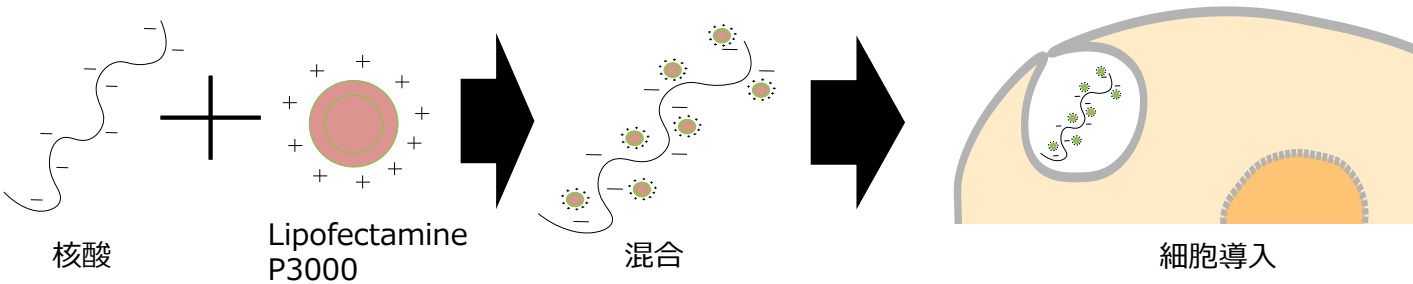
## 2. 実施プロトコル\*

下記OLP2の条件

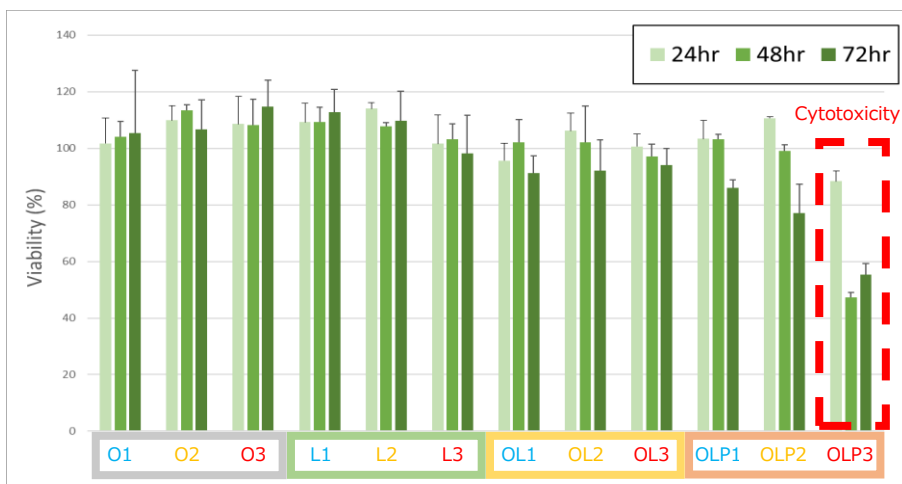
\*Lipofectamine3000のプロトコルを参考に作成

[https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/lipofectamine3000\\_protocol.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/lipofectamine3000_protocol.pdf)

- Opti-MEM 5  $\mu$ Lと Lipofectamine 3000 0.3  $\mu$ 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  $\mu$ Lと核酸 1  $\mu$ Lと P3000 0.3  $\mu$ Lの割合で混合する。(混合液②)
- 混合液②に混合液①を5  $\mu$ 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  $\mu$ L)に混合液③を10  $\mu$ Lずつ加える。(10倍希釈、核酸100倍希釈、総量100  $\mu$ 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  $\mu$ Lに追加

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

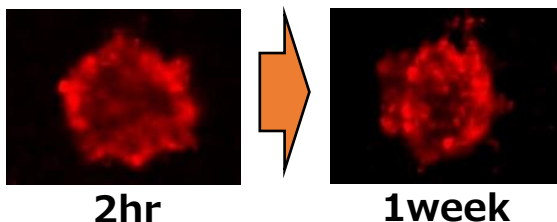
L1: Lipofectamine Low (0.1 $\mu$ L)  
L2: Lipofectamine Middle (0.3 $\mu$ L)  
L3: Lipofectamine High (1 $\mu$ L)

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

OLP1: Opti-MEM Low (3 $\mu$ L)  
+Lipofectamine Low (0.1 $\mu$ L)  
+P3000 Low (0.1 $\mu$ L)  
OLP2: Opti-MEM Middle (10 $\mu$ L)  
+Lipofectamine Middle (0.3 $\mu$ L)  
+P3000 Middle (0.3 $\mu$ L)  
OLP3: Opti-MEM High (30 $\mu$ L)  
+Lipofectamine High (1 $\mu$ L)  
+P3000 (0.3 $\mu$ 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。