

TRANSFECTION

99/6/30 M.Okuno

solution 2.5 M CaCl₂
 50 mM Hepes (pH 7.1) ,280 mM NaCl
 150 mM Na₂HPO₄

medium DMEM (10 % FBS 入り)

- 1 . 細胞を一日培養し、mediumを交換する。(2 ml)
- 2 . 3 μg のプラスミドをTEに溶かし200 μlにする。
- 3 . (2) に22 μl の2.5M CaCl₂を加える。
- 4 . 6 ml チューブに220 μl のHepes · NaCl 溶液をとり、2 μl のNa₂PO₄溶液を加える。
- 5 . (4) に(3) を20 μl ずつ滴下しては瞬間ボルテックスをして全量加える。
- 6 . (5) で沈殿ができていることを顕微鏡により確認後、培養中細胞の全容量の1 / 10 以下量を滴下する。(2 ml に150 μl)
- 7 . 穏やかに浸透後、37 °C , 5 % CO₂で15 ~ 24 時間培養する。
- 8 . 翌朝、mediumを交換する。