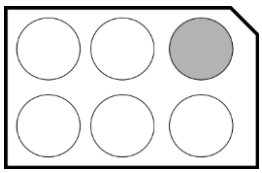
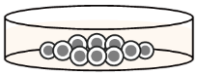
細胞の準備





トランスフェクション前日に 6ウェルプレートに細胞をまき、40～50%コンフルエント程度まで培養する。

ゲノム編集

VIKING
ベクター
混合液

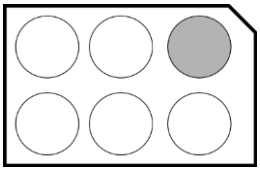
培地を交換し、ウェルにトランスフェクション試薬、VIKINGベクター混合液を添加し、穏やかに混和する。

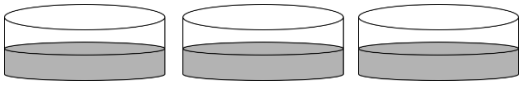
Opti-MEM(1X)	200 μL
VIKINGベクター混合液	2 μL
トランスフェクション試薬	各試薬のプロトコル通り ※弊社プロトコルで推奨するトランスフェクション試薬の場合は 5 μL

36～48時間培養

ゲノム編集細胞の選別

※細胞選別用薬剤入り培地を用意する。



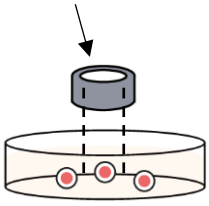


6ウェルプレートから3枚の10cmディッシュへ
細胞数1/10、3/10、6/10の割合にて継代を行う。
以降、細胞選別用薬剤入り培地で、培養を行う。

コロニー形成まで培養

クローン化

0.25% Trypsin/EDTA
20 μL



RCKT002の場合

① コロニーが形成されたら、蛍光顕微鏡で観察し、EGFP(-)、TurboRFP(+)のコロニーを探す。

② 形成されたコロニーの位置に合わせて、滅菌済みクローニングリングを配置し、トリプシン処理を行い、コロニーをピックアップする。

RCKT003, RCKT004の場合

形成されたコロニーの位置に合わせて、滅菌済みクローニングリングを配置し、トリプシン処理を行い、コロニーをピックアップする。

培養、観察を継続して、順次、拡大培養を行う。

培養した細胞の一部を用いてDNAを抽出し、これを鋳型としてPCRを行い、電気泳動パターンよりゲノム編集がされていることを確認する。
※シークエンス解析による塩基配列の確認を推奨