

## **SAFETRANS ( $\alpha$ -CDE)**

### **BACKGROUND**

Gene and oligonucleotide therapies are emerging as a potential strategy for the treatment of genetic diseases, cancers, cardiovascular diseases and infectious diseases. Recently, polyamidoamine (PAMAM) dendrimer (generation (G) 3) conjugate with  $\alpha$ -cyclodextrin ( $\alpha$ -CDE) has been known as novel DNA, shRNA and siRNA carriers.  $\alpha$ -CDE works as a superior nucleic acids carrier without severe cytotoxicity *in vitro* and *in vivo*.

**Storage**                      Stored at -20°C

**Package**                     2 mg

**pDNA Transfection**      【In the case of charge ratio 100 (carrier/pDNA)】

**Protocol**

1. Seed the cells ( $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$  cells/well) on a 24-well-plate, and cultured for 1 day at 5% CO<sub>2</sub> incubator. (40~60 % confluent should be set for transfection.)
2. Add the serum-free medium 200 uL/well into 1.5 mL tube, and add the pDNA (2 ug/well) dissolved in TE buffer (pH 7-8)
3. Add the  $\alpha$ -CDE Transfection reagent (1 mg/mL) 189.3 uL into pDNA solution of 2 and mixing by pipetting (5~6 times) or slight vortexing (10 s).
4. Incubation for 10-15 min at room temperature to form the complex with pDNA.
5. During the complexation in 4, cells were washed with PBS or serum free medium.
6. Add the serum-free medium 200 uL/well and pDNA complex solution (1 ug/uL) prepared in 3, then incubated for 1-3 h at 5% CO<sub>2</sub> incubator<sup>1)</sup>.
7. After removal of the medium containing pDNA complex, washed with PBS or serum-free medium for 1 time.
8. Add the culture medium (containing serum) and further incubated for 24 h, and determine the gene expression.

**1) Incubation time can be changed for customer's use. Negligible cytotoxicity should be observed until 24 h incubation.**



**Note: We recommend for the use of adhesion cells cultured in 24 well-plates in this transfection protocol. In transfection with other charge ratios, please see the content of pDNA and the transfection reagent indicated the table 1.**

**Table 1. Examples of Transfection**

**【In the case of transfection with pDNA (2 ug)/well】**

Charge ratio	$\alpha$ -CDE Transfection reagent (ug/well)
20	37.9 ug
50	94.6 ug
100	189.3 ug

#### **siRNA Transfection**

**【In the case of a charge ratio of 100 (carrier/siRNA)】**

#### **Protocol**

1. Seed the cells ( $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$  cells/well) on a 24-well-plate, and cultured for 1 day at 5% CO<sub>2</sub> incubator. (40~60 % confluent should be set for transfection.)
2. Add the serum-free medium 50 uL/well into tube, and add the siRNA (0.4 ug/well) dissolved in RNase-free water.
3. Add the  $\alpha$ -CDE Transfection reagent (1 mg/mL) 37.9 uL into siRNA solution of 2 and mixing by pipetting (2~3 times).
4. Incubation for 10-15 min at room temperature to form complex with siRNA.
5. During the complexation in 4, cells were washed with PBS or serum free medium.
6. Add the serum-free medium 220 uL/well and siRNA complex solution prepared in 3, then incubated for 1-3 h at 5% CO<sub>2</sub> incubator<sup>1)</sup>.
7. Add the serum (30 uL/well) and further incubated for 24-48 h, and determine the RNAi effects.

**1) Incubation time can be changed for customer's use. Negligible cytotoxicity should be observed until 24 h incubation.**

**Note: We recommend for the use of adhesion cells cultured in 24 well-plates in this transfection protocol. In transfection with other charge ratios, please see the content of pDNA and transfection reagents indicated the table 2.**



**Table 2. Example of Transfection**

【In the case of transfection with siRNA (0.4 ug )/well】

Charge ratios	$\alpha$ -CDE Transfection reagent (ug/well)
20	7.6 ug
50	18.9 ug
100	37.9 ug

**shRNA Transfection  
Protocol (example for  
pSilencer)**

【In the case of Charge ratio 100 (carrier/pSilencer (shRNA expressing vector))】

1. Seed the cells ( $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$  cells/well) on a 24-well-plate, and cultured for 1 day at 5% CO<sub>2</sub> incubator. (40~60 % confluent should be set for transfection.)
2. Add the serum-free medium 200 uL/well into 1.5 mL tube, and add the pSilencer (2 ug/well) dissolved in TE buffer (pH 7-8)
3. Add the  $\alpha$ -CDE Transfection reagent (1 mg/mL) 189.3 uL into pSilencer solution of 2 and mixing by pipetting (5~6 times) or slight vortexing (10 s).
4. Incubation for 10-15 min at room temperature to form complex with pSilencer.
5. During the complexation in 4, cells were washed with PBS or serum free medium.
6. Add the serum-free medium 200 uL/well and  $\alpha$ -CDE/pSilencer complex solution prepared in 3, then incubated for 1-3 h at 5% CO<sub>2</sub> incubator<sup>1)</sup>.
7. Add the serum (22.2 uL/well) and further incubated for 24-48 h, and evaluate the RNAi effects.

**1) Incubation time can be changed for customer's use. Negligible cytotoxicity should be observed until 24 h incubation.**

**Note: We recommend for the use of adhesion cells cultured in 24 well-plates in this transfection protocol. In transfection with other charge ratios, please see the content of pSilencer and transfection reagents indicated the table 3.**



**Table 3. Examples of Transfection**

**【In the case of transfection with pSilencer (2 ug)/well】**

Charge ratio	$\alpha$ -CDE Transfection reagent (ug/well)
20	37.9 ug
50	94.6 ug
100	189.3 ug

**Reverse Transfection Protocol**

1. Add the serum-free medium 200  $\mu$ L/well into tube, and add the siRNA or miRNA (0.4 ug/well) dissolved in RNase-free water.
2. Add the  $\alpha$ -CDE Transfection reagent 37.9  $\mu$ L (stock conc. 1 mg/mL) into siRNA or miRNA solution of 1 and mixing by pipetting (2~3 times).
3. Incubation for 10-15 min at room temperature to form complex with siRNA or miRNA.
4. Add  $\alpha$ -CDE Transfection reagent/siRNA or miRNA complexes (7.47 ug) 200  $\mu$ L/well.
5. Add the cell suspension ( $5 \times 10^4$  cells/mL) 200  $\mu$ L/well, and incubate for 1-3 h at 5% CO<sub>2</sub> incubator.<sup>1)</sup>
6. Exchange the culture medium (containing 10% serum) 500  $\mu$ L, and further incubate for 21 h at 5% CO<sub>2</sub> incubator.
7. Assay the transfected cells.

**1) Incubation time can be changed for customer's use. Negligible cytotoxicity should be observed until 24 h incubation.**

**Note: We recommend for the use of adhesion cells cultured in this transfection protocol.**

**Trouble Shooting**

**【Low transfection efficient】**

- ① Charge ratio between  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA may not be optimized.

When a charge ratio between  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA is not optimized, the net charge of the complex provides negative or far positive, resulting in the low transfection efficiency. In that case, please optimize a charge ratio between  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA.



- ② The amount of the complex of  $\alpha$ -CDE/pDNA may be not enough.

In the case of low transfection efficiency and no cytotoxicity of the complex, please increase the amount of the complex of  $\alpha$ -CDE/pDNA.

- ③ The medium containing serum was used during the mixing of  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA.

Please use serum-free medium during the complex preparation.

- ④ It took time to use the complex of  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA.

Please perform transfection after complex formation as soon as possible.

- ⑤ Incubation time for transfection may not be optimized.

Optimized incubation time is dependent on the kind of cells. Please optimize incubation time for each experiment.

- ⑥ Problem in vectors.

The factors such as promoter, origin of replication and size of pDNA may sometimes affect gene expression.

- ⑦ Cell density may not be proper. 40~60 % confluent should be beset for transfection.

- ⑧ Purity of pDNA may not be high.

- ⑨ Problem in reporter assay. Please perform the reporter assay with a positive control.

### **【Very high cytotoxicity】**

- ① Incubation time with the complex of  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA may be too long.

- ② The amount of the complex of  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA may be too much.

- ③ Stress for cells. Washing process should be done quickly and gently.

- ④ Long time culture with serum-free medium.

After transfection for 2-3 h, further incubation should be done with medium containing 10% serum.



**【No reproducibility of transfection】**

- ① Same cell density should be used in each experiment.
- ② Contamination of mycoplasma.
- ③ Cell passage may be too high.
- ④ Different qualification of serum.

**【Precipitation was observed when mixing with pDNA】**

- ① Low purification of pDNA
- ② Mixing ratio of  $\alpha$ -CDE Transfection reagent and pDNA may not be proper.
- ③ The composition of the solution dissolving pDNA may not be proper.
- ④  $\alpha$ -CDE Transfection reagent may be expired.

**Note**

This reagent is for research use only. Do not use in humans or diagnostic procedures.

**Reference**

1. Kihara F, Arima H, Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K. In Vitro and In Vivo Gene Transfer by an Optimized  $\alpha$ -Cyclodextrin Conjugate with Polyamidoamine Dendrimer. *Bioconjug. Chem.*, 14, 342-350, 2003.
2. Kihara F, Arima H, Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K. Effects of Structure of Polyamidoamine Dendrimer on Gene Transfer Efficiency of the Dendrimer Conjugate with  $\alpha$ -Cyclodextrin. *Bioconjug. Chem.*, 13, 211-219, 2002.
3. Arima H, Kihara F, Hirayama F, Uekama K. Enhancement of Gene Expression by Polyamidoamine Dendrimer Conjugates with  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Cyclodextrins. *Bioconjug. Chem.*, 12, 476-484, 2001.
4. Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K, Arima H. Potential use of Polyamidoamine Dendrimer/ $\alpha$ -Cyclodextrin Conjugate (generation 3, G3) as a Novel Carrier for Short Hairpin RNA-Expressing Plasmid DNA. *J. Pharm. Sci.*, 97, 3022-3034, 2008.
5. Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K, Arima H. Evaluation of polyamidoamine dendrimer/ $\alpha$ -cyclodextrin conjugate (generation 3, G3) as a novel carrier for small interfering RNA (siRNA). *J. Control. Release*, 119, 349-359, 2007.
6. Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K, Arima H. Potential use of polyamidoamine dendrimer/ $\alpha$ -cyclodextrin conjugate (generation 3, G3) as a novel carrier for short hairpin RNA-expressing plasmid DNA, *J. Pharm. Sci.*, 97, 3022-3034, 2008.

*For research use only. Not for clinical diagnosis.*



COSMO BIO CO., LTD.

Inspiration for Life Science

TOYO 2CHOME, KOTO-KU, TOKYO, 135-0016, JAPAN

URL: <http://www.cosmobio.co.jp> e-mail: [export@cosmobio.co.jp](mailto:export@cosmobio.co.jp)

[Outside Japan] Phone : +81-3-5632-9617 [国内連絡先] Phone : +81-3-5632-9610

FAX : +81-3-5632-9618 FAX : +81-3-5632-9619



## SAFETRANS ( $\alpha$ -CDE)

### 背景

遺伝子治療やオリゴヌクレオチド療法は、遺伝性疾患、癌、心疾患、感染症などに対して重要な治療戦略である。近年、ポリアミドアミンデンドリマー (PAMAM) デンドリマー (ジェネレーション (G) 3) と  $\alpha$ -シクロデキストリンとの結合体 ( $\alpha$ -CDE) が DNA、shRNA や siRNA 用キャリアとして有用であることが見出された。 $\alpha$ -CDE は多くの細胞に対して細胞障害が低く、安全性に優れるキャリアであり、*in vitro* および *in vivo* における使用が可能である。

保管温度 -20°C

包装 2 mg

pDNA トランスフェクションプロトコル 【チャージ比 100 (carrier/pDNA 比) の場合】

1.  $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$  cells/well となるように 24 ウェルプレートに播種し、CO<sub>2</sub> インキュベータにて 1 日間培養する。(40~60 % コンフルエント)
2. 無血清培地 200  $\mu$ L/well を 1.5 mL チューブに添加し、TE buffer (pH 7 ~ pH 8) に溶解した pDNA 2  $\mu$ g/well を添加する。

(注：pDNA の品質は、トランスフェクション効率、再現性、毒性などに影響するため、高純度の pDNA をご使用下さい)

3.  $\alpha$ -CDE Transfection reagent (1 mg/mL) 189.3  $\mu$ L を 2. の pDNA 溶液に添加する。5~6 回ピペッティングまたは 10 秒間ボルテックスして、溶液を混合する。
4. 室温 (15~25°C) で 10~15 分間静置し、pDNA との複合体を形成させる。
5. 4. の複合体形成中に、24 ウェルプレートから細胞が剥離しないように静かに培地を吸引除去し、PBS または 無血清培地で 1 回洗浄する。
6. 24 ウェルプレートに無血清培地 200  $\mu$ L/well を添加し、3. で調製した pDNA 複合体溶液を添加し、CO<sub>2</sub> インキュベータにて 1~3 時間インキュベート<sup>注1)</sup> する。
7. pDNA 複合体を含む培地を静かに吸引除去した後、PBS または無血清培地で 1 回洗浄を行う。
8. 細胞に新鮮な培養液 (血清含有) を添加し、24 時間インキュベートし、



トランスフェクトした細胞の遺伝子発現を定量する。

**注1)** インキュベーション時間は適宜変更可能であり、24 時間インキュベーションしても細胞障害性はほとんどありません。

**(※)** 本トランスフェクションプロトコールは、24 ウェルプレートにて培養した付着細胞に対して推奨しております。その他のチャージ比を用いてトランスフェクションする場合は、表 1 に示す pDNA 量および導入試薬量を参照下さい。なお、それぞれの実験系においてトランスフェクション効率の最適化をお勧めいたします。

**表 1 トランスフェクション量の例**

**【1 well あたり pDNA 2 ug トランスフェクションする場合】**

Charge 比	α-CDE Transfection reagent (ug/well)
20	37.9 ug
50	94.6 ug
100	189.3 ug

**siRNA トランスフェクション用プロトコール**

**【チャージ比 100 (carrier/pDNA 比) の場合】**

1.  $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$  cells/well となるように 24 ウェルプレートに播種し、CO<sub>2</sub> インキュベータにて 1 日間培養する。(40~60 % コンフルエント)
2. 無血清培地 50 uL/well を 1.5 mL チューブに添加し、RNase free water に溶解した siRNA 0.4 ug/well (siRNA の濃度は target gene に依存する) を添加する。
3. α-CDE Transfection reagent (1 mg/mL) 37.9 uL を 2. の siRNA 溶液に添加する。2~3 回ピペッティングして、溶液を混合する。
4. 室温 (15~25°C) で 10~15 分間静置し、siRNA との複合体を形成させる。
5. 4. の複合体形成中に、24 ウェルプレートから細胞が剥離しないように静かに培地を吸引除去し、PBS または無血清培地で 1 回洗浄する。
6. 24 ウェルプレートに無血清培地 220 uL/well を添加し、3. で調製した siRNA 複合体溶液を添加し、CO<sub>2</sub> インキュベータにて 1~3 時間インキュベート<sup>注1)</sup> する。
7. 細胞に血清 30 uL/well を添加し、適切な時間 (24~48 時間) インキュベートし、トランスフェクトした遺伝子発現のアッセイを行う。





**注1)** インキュベーション時間は適宜変更可能であり、24 時間インキュベーションしても細胞障害性はほとんどありません。

**(※)** 本トランスフェクションプロトコールは、24 ウェルプレートにて培養した付着細胞に対して推奨しております。その他のチャージ比を用いてトランスフェクションする場合は、表 2 に示す siRNA 量および導入試薬量を参照下さい。なお、それぞれの実験系においてトランスフェクション効率の最適化をお勧めいたします。

**表 2 トランスフェクション量の例**

**【1 well あたり siRNA 0.4  $\mu$ g トランスフェクションする場合】**

Charge 比	$\alpha$ -CDE Transfection reagent ( $\mu$ g/well)
20	7.6 $\mu$ g
50	18.9 $\mu$ g
100	37.9 $\mu$ g

**hRNA トランスフェクション用プロトコール(pSilencerを使用した例)**

**【チャージ比 100 (carrier/pSilencer (shRNA expressing vector) 比) の場合】**

1.  $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$  cells/well となるように 24 ウェルプレートに播種し、CO<sub>2</sub> インキュベータにて 1 日間培養する。(40~60 % コンフルエント)
2. 無血清培地 200  $\mu$ L/well を 1.5 mL チューブに添加し、TE buffer (pH 7 ~ pH 8) に溶解した pSilencer 2  $\mu$ g/well を添加し、vortexing (10 s) する。
3.  $\alpha$ -CDE Transfection reagent (1 mg/mL) 189.3  $\mu$ L を 2. の pSilencer 溶液に添加する。5~6 回ピペッティングまたは 10 秒間ボルテックスして、溶液を混合する。
4. 室温 (15~25°C) で 10~15 分間静置し、pSilencer との複合体を形成させる。
5. 4. の複合体形成中に、24 ウェルプレートから細胞が剥離しないように静かに培地を吸引除去し、PBS または 無血清培地で 1 回洗浄する。
6. 3. で調製した  $\alpha$ -CDE/pSilencer 複合体溶液を添加し CO<sub>2</sub> インキュベータにて 1~3 時間インキュベートする。<sup>注1)</sup>
7. 細胞に血清 22.2  $\mu$ L/well を添加し、適切な時間 (24~48 時間) インキュベートし、トランスフェクトした遺伝子発現のアッセイを行う。

**注1)** インキュベーション時間は適宜変更可能であり、24 時間インキュベ



ーションしても細胞障害性はほとんどありません。

- (※) 本トランスフェクションプロトコールは、24 ウェルプレートにて培養した付着細胞に対して推奨しております。その他のチャージ比を用いてトランスフェクションする場合は、表 3 に示す pSilencer 量および導入試薬量を参照下さい。なお、それぞれの実験系においてトランスフェクション効率の最適化をお勧めいたします。

表 3 トランスフェクション量の例

【1 well あたり pSilencer 2 ug トランスフェクションする場合】

Charge 比	α-CDE <sup>®</sup> Transfection reagent (ug/well)
20	37.9 ug
50	94.6 ug
100	189.3 ug

#### リバーストランス フェクション法

1. 無血清培地 200 uL/well をチューブに添加し、RNase free water に溶解した siRNA または miRNA 0.4 ug/well (siRNA または miRNA の濃度は target gene に依存する) を添加する。
2. α-CDE Transfection reagent 37.9 uL (ストック濃度 1 mg/mL) を 1. の siRNA または miRNA 溶液に添加する。2~3 回ピペッティングして、溶液を混合する。(15 分間静置)
3. 24 well plate に α-CDE Transfection reagent/siRNA or miRNA 複合体 (7.47 μg) を 200 μL/well 添加する。
4. 細胞懸濁液 ( $5 \times 10^4$  cells/mL) 200 uL/well を添加し、CO<sub>2</sub> インキュベータにて 1~3 時間インキュベート<sup>注1)</sup> する。
5. 10% FCS 含有培地 500 μL に培地を交換し、CO<sub>2</sub> インキュベータにて 21 時間インキュベートする。
6. トランスフェクトした遺伝子発現のアッセイを行う。

注1) インキュベーション時間は適宜変更可能であり、24 時間インキュベーションしても細胞障害性はほとんどありません。

- (※) 本トランスフェクションプロトコールは、浮遊および付着細胞に対して使用可能です。なお、それぞれの実験系においてトランスフェクション効率の最適化をお勧めいたします。



## トラブル

## トランスフェクション効率が低い

### シューティング

#### ① $\alpha$ -CDE Transfection reagent と pDNA のチャージ比が不適

$\alpha$ -CDE Transfection reagent と pDNA のチャージ比が最適でない場合には、 $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体の正味電荷が負、中性あるいは極端に正となり、細胞表面への吸着が非効率的となる。よって、 $\alpha$ -CDE Transfection reagent と pDNA のチャージ比を変更する。

#### ② $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体量が不充分

トランスフェクション効率が低いが、細胞障害性は観察されない場合は、 $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体を増量する。

#### ③ pDNA と $\alpha$ -CDE Transfection reagent の混合の際に、血清入りの培地を使用している

無血清の培地を使用する。

#### ④ pDNA と $\alpha$ -CDE Transfection reagent 複合体形成後、時間を空けて使用した

複合体調製処理後、速やかにトランスフェクションする。

#### ⑤ 遺伝子発現のためのインキュベーション時間が不適

トランスフェクション後の最適インキュベーション時間は細胞系により異なる。最適インキュベーション時間が不明の場合には、発現レベルと経過時間の相関関係を調べる実験を行う。

#### ⑥ ベクターの影響

プロモーター、複製起源および pDNA のサイズなどのファクターは遺伝子発現率に影響を及ぼす。トランスフェクションに使用した pDNA の量もプラスミドの発現率に影響する。

#### ⑦ $\alpha$ -CDE Transfection reagent - DNA 複合体の添加時における細胞密度が高すぎる

付着細胞の場合には、複合体添加時の最適な細胞密度は 通常 40~60 %。

#### ⑧ pDNA の純度が低い

トランスフェクションには、純度の高い pDNA を使用する。pDNA 精製中に存在する不純物によりトランスフェクション効率は著しく低下する。

#### ⑨ レポーターアッセイが問題

レポーターアッセイの測定法が確実に最適となるよう、ポジティブコントロール実験を常に一緒に行う。



## 非常に高い細胞死亡率

### ① $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体と細胞との接触時間が長すぎる。

ほとんどの付着細胞では、 $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体と2~3 時間インキュベートすることにより、最適な結果が得られる。しかし、感受性の高い細胞や、 $\alpha$ -CDE Transfection reagent での処理後に極端に高い死亡率を示した細胞系の場合には、 $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体とのインキュベーション時間を短縮する。

### ② $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体量が多すぎる。

細胞と複合体との接触時間の短縮に関わらず、多くの細胞死が観察された場合には、 $\alpha$ -CDE Transfection reagent と pDNA の比率を変えることなく  $\alpha$ -CDE Transfection reagent - pDNA 複合体の量を減らす。

### ③ 細胞へのストレス

洗浄操作は、素早く行う。温度差による細胞へのストレスを避ける。

### ④ 無血清培地での長時間の培養

トランスフェクション時には、無血清培地を使用するが、その後、2~3 時間後には最終濃度が 10%になるように血清を添加して、インキュベーションを行う。

## 各実験でトランスフェクション効率の再現性がない

### ① 実験毎に細胞集密度が異なる

播種する細胞数を正確にする。細胞を播種後、複合体を添加するまでの間のインキュベーション時間を実験毎に一定に保つ。

### ② マイコプラズマのコンタミ

マイコプラズマのコンタミはトランスフェクション効率に影響を及ぼす。マイコプラズマに感染した細胞の増殖の変化により、実験毎のトランスフェクション効率の変動する。

### ③ 細胞の継代回数が多すぎる

細胞の継代回数が非常に多い場合、細胞の形態、特性およびトランスフェクション効率に変化する可能性がある。なるべく継代回数の少ない細胞の使用を推奨。

### ④ 血清の品質が異なる

血清の品質の差異によりトランスフェクション効率の変動し得る。一般に、トランスフェクション実験を行う前に、血清のロットチェックをしておく。



### pDNA と混合したら、沈殿物が認められる

- ① pDNA の精製度が低い。
- ② pDNA と  $\alpha$ -CDE Transfection reagent との混合比率が適当でない。
- ③ pDNA を溶解している溶液の組成が適当でない。
- ④  $\alpha$ -CDE Transfection reagent が古くなり、沈殿物が認められるようになった。

### ご注意

本製品は研究用試薬です。医薬品、家庭用その他試験研究以外の用途にはご使用にならないで下さい。

### 参考文献

1. Kihara F, Arima H, Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K. In Vitro and In Vivo Gene Transfer by an Optimized  $\alpha$ -Cyclodextrin Conjugate with Polyamidoamine Dendrimer. Bioconjug. Chem., 14, 342-350, 2003.
2. Kihara F, Arima H, Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K. Effects of Structure of Polyamidoamine Dendrimer on Gene Transfer Efficiency of the Dendrimer Conjugate with  $\alpha$ -Cyclodextrin. Bioconjug. Chem., 13, 211-219, 2002.
3. Arima H, Kihara F, Hirayama F, Uekama K. Enhancement of Gene Expression by Polyamidoamine Dendrimer Conjugates with  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Cyclodextrins. Bioconjug. Chem., 12, 476-484, 2001.
4. Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K, Arima H. Potential use of Polyamidoamine Dendrimer/ $\alpha$ -Cyclodextrin Conjugate (generation 3, G3) as a Novel Carrier for Short Hairpin RNA-Expressing Plasmid DNA. J. Pharm. Sci., 97, 3022-3034, 2008.
5. Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K, Arima H. Evaluation of polyamidoamine dendrimer/ $\alpha$ -cyclodextrin conjugate (generation 3, G3) as a novel carrier for small interfering RNA (siRNA). J. Control. Release, 119, 349-359, 2007.
6. Tsutsumi T, Hirayama F, Uekama K, Arima H. Potential use of polyamidoamine dendrimer/ $\alpha$ -cyclodextrin conjugate (generation 3, G3) as a novel carrier for short hairpin RNA-expressing plasmid DNA, J. Pharm. Sci., 97, 3022-3034, 2008.



COSMO BIO CO., LTD.  
Inspiration for Life Science

**特許 1**：特許発明の名称：遺伝子導入剤

特許発明者：有馬英俊、平山文俊、上釜兼人

出願人：国立大学法人熊本大学

出願番号：PCT/JP2006/303669

**特許 2**：特許発明の名称：サイクロデキストリン・デンドリマー結合体及びその使用

特許発明者：有馬英俊、平山文俊、上釜兼人

出願人：日本食品化工工業株式会社

出願番号：特許公開 2001-103969

**特許 3**：特許発明の名称：細胞に RNA を導入する方法

特許発明者：有馬英俊、平山文俊、上釜兼人

出願人：財団法人くまもとテクノ産業財団

出願番号：PCT/JP2004/010548



人と科学のステキな未来へ

**コスモ・バイオ株式会社**

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル  
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部（お問い合わせ）

TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619

TEL : (03) 5632-9620