

In-vivo DDMC

In our in-vitro Protocol, a negative phosphate/nitrogen (P/N) charge ratio of protocol are calculated again to near values as 0.089 for DDMC and 0.091 as for starting DEAE-dextran, because P content of DNA is 9.3%.

That is why $P/N = (y \times 0.093 \times 14 \times (\text{graft rate} + 1)) / (x \times 0.033 \times 31)$

Here, DNA/DEAE-dextran copolymer = y/x

P : 9.3% (P cont. of DNA), N : 3.3 % (N cont. of DEAE-dextran) P atomic weight 31

N atomic weight 14

Graft rate is PMMA/DEAE-dextran (backbone polymer).

In vivo Protocol, a negative phosphate/nitrogen (P/N) charge ratio calculated is better less than 0.09 for optimum conditions.

Example : Tail vein injection (injection in mouse)

1 Prepare 5% glucose (w/v).

2 Dilute 50 µg of DNA into 400 µl of 5% glucose (w/v). Vortex gently and spin down briefly.

3 Add the 70 µl in DDMC (20mg/ml) solution to the DNA solution all at once (important: do not mix the solution in the reverse order).

4 Inject animals (injection in mouse)

For injection of 470 µl into the tail vein for 10 seconds, use of a 1 ml syringe and 26G ½ needle is recommended.

マウスを対象とした尾静脈注射によるものでございましたら、
以下のような手順を考えます。

5% glucose 液をご用意ください。

1. 滅菌済みのマイクロチューブに、プラスミド 50 μ g を 5% glucose 液 400 μ l で希釈し、
DEAE-デキストラン共重合体液(DDMC)(20mg/ml)70 μ l を加え、
この時、よく混ぜるように滅菌チューブを指でたたくようにする。

2. マウスを固定し、70 %エタノールで尾部を消毒して静脈を見えやすくする。
複合体溶液を 26 ゲージ、1/2 インチの注射針と 1 ml シリンジを用いて、
10 秒以上かけて尾静脈へ注射する。

これは、プロトコールではなくてあくまでもご参考の手順です。mRNA や siRNA の場合は 0.05%

DEPC(diethyl pyrocarbonate)を DDMC 溶液に加え、室温で一晩インキュベートします。その後、30 分間のオートクレーブにより DEPC を飛ばしてから使用します。必要な場合は 5% glucose 液も同様な処理をいたします。DDMC を増量する必要があるかもしれません。
また GFP よりルシフェラーゼ発現のほうが実績があります。