



Drosophila S2 cell cultureとtransfection

Author 後藤 聡
慶應義塾大学医学部生理学教室

Link

Published 2011.11.14

Last Update 2011.11.14

Keywords

概要・原理

The S2 cell line was derived from a primary culture of late stage *Drosophila melanogaster* embryos. Many features of the S2 cell line suggest that it is derived from a macrophage-like lineage. S2 cells grow at room temperature without CO₂ as a loose, semi-adherent monolayer in tissue culture flasks. (from Invitrogen S2 cells manual) transfectionの方法として、ここではリン酸Ca法を紹介する。発現ベクターとして、メタロチオネインプロモーターがよく使用されるが、CMV promoterも使用可能である。Drosophila genomics resource center (<https://dgrc.cgb.indiana.edu/>)またはInvitrogenから入手可能。

装置・器具・試薬

culture medium

Sigma Schneider's Insect Medium S0146 10% FBS; penicillin-streptomycin

transfection試薬

Invitrogen Calcium Phosphate Transfection kit Cat.No. K2780-01

詳細

工夫とコツ

1. Cell culture 細胞は半浮遊細胞なので、ピペティングではがすことができる。3-4日に一



度、1/10-1/20で継代する。

2. transfection 前日、24 well-plateに、 1×10^6 cell/mlの細胞を500 ul /wellまきこむ。
3. transfection当日、DNA 3 ug 2M CaCl₂ 6 ul を滅菌水で50 ulになるようupする。(solution A)
4. solution Aを2 x HBS溶液にゆっくり少しずつdropする。Dropするごとにvortexをかけ、できるだけ素早くsolution Aが均一になるようにする。30-40 min R.T 静置
5. total 100 ulのtransfection溶液を細胞に滴下する。
6. 約24時間後に、mediumを交換する。1日後～3日後にタンパク質の発現を確認する。

参考文献