



Drosophila S2 cell cultureとtransfection

【 Author 】 後藤 聡
(慶應義塾大学医学部生理学教室)

【 Homepage 】

【 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

- 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。

工夫とコツ

参考文献

