果蝇 Schneider 2 细胞磷酸钙法转染

Ca-phosphate-mediated Transient Transfection method in *Drosophila* S2 Cells

刘爱国^{1, #}, 刘敏^{1, 2, #}, 朱健^{1, 2, *}

¹ 生命科学联合中心, 前沿交叉学科研究院, 北京大学, 北京; ² 生命科学学院, 北京大学, 北京

*通讯作者邮箱: zhua@pku.edu.cn

#共同第一作者/同等贡献

引用格式: 刘爱国, 刘敏, 朱健. (2019). 果蝇 Schneider 2 细胞磷酸钙法转染. *Bio-101* e1010257. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010257.

How to cite: Liu, A. G., Liu, M. and Zhu, A. J. (2019). Ca-phosphate-mediated transient transfection in *Drosophila* S2 cells. *Bio-101* e1010257. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010257. (in Chinese)

摘要: 果蝇 Schneider 2 (S2) 细胞系是从果蝇早期胚胎分离出来的一类血淋巴细胞, 也是果蝇仅有的能进行细胞实验的几种细胞系中最常见的一种。因此, 掌握 S2 细胞的转染方法对于果蝇细胞生物学研究非常重要。目前, 市面上针对 S2 细胞的脂质体转染试剂相对较少且价格昂贵, 转染效率一般也难以超过 20%。磷酸钙转染方法成本低廉, 并且有着不逊于脂质体转染试剂的效率, 是一种性价比非常高的转染方法。

关键词: 果蝇, S2 细胞系, 磷酸钙, 细胞转染

材料与试剂

1. 6 孔细胞培养板 (Thermo Fisher Scientific, Nunc, catalog number: 140675)
2. 24 孔细胞培养板 (Thermo Fisher Scientific, Nunc, catalog number: 142475)
3. 1.5 ml 塑料离心管 (Corning, AXYGEN, catalog number: MCT-150-C)
4. 果蝇 S2 细胞
5. 一次性无菌过滤装置 (Thermo Fisher Scientific, Nalgene, catalog number: 1660045)
6. CaCl_2 (Merck, Sigma-Aldrich, catalog number: 223506)
7. NaCl (Merck, Sigma-Aldrich, catalog number: S5886)
8. KCl (Merck, Sigma-Aldrich, catalog number: P9333)
9. Na_2HPO_4 (Merck, Sigma-Aldrich, catalog number: S7907)

10. Glucose (Thermo Fisher Scientific, Gibco, catalog number: 15023021)
11. HEPES (free acid) (VWR Life Science, AMRESCO, catalog number: 0511)
12. NaOH (Merck, Sigma-Aldrich, catalog number: 221465)
13. 0.25 M CaCl_2 (见溶液配方)
14. 2× HEPES (见溶液配方)

仪器设备

1. 震荡混匀仪 (Vortex) (其林贝尔, model: VORTEX-5)

实验步骤

1. 待细胞生长密度达到 90% 左右时, 传代至 6 孔板, 每孔约 2 ml 培养基, 至少两小时后, 当细胞密度达到 40% 左右时可进行转染 (图 1)。

图 1. S2 细胞生长密度达到 90% (左) 和 40% (右)

2. 取 1.5 ml 离心管, 将 3 μg 左右的质粒或 RNA 稀释在 100 μl 0.25 M CaCl_2 中。
3. 取 1.5 ml 离心管加入 100 μl 2× HEPES, 将 CaCl_2 /DNA 混合物逐滴加入, 边加边用震荡混匀仪混匀。(也可以边加边用手指弹匀)
4. 将混合物静置 10~20 分钟, 然后逐滴加入到细胞中, 轻轻摇晃细胞培养板将其混匀。
5. 约 12 小时后, 为细胞更换新鲜的培养基。

- 对于 24 孔板，可使用约 35 μ l 左右的 CaCl_2 和 2 $\times$ HEPES，其他培养皿可酌情增减。

注意事项

- 磷酸钙转染需使用含血清的培养基，对于无血清培养基培养的细胞，磷酸钙转染效率极差。
- CaCl_2 和 2 $\times$ HEPES 配制后需分装保存，转染时若两者混合后产生沉淀，则说明溶液的 pH 异常，需重新调节或配制。

溶液配方

- 0.25 M CaCl_2
过滤，分装后 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存
- 2 $\times$ HEPES (500 ml)
8.00 g NaCl
0.35 g KCl
0.20 g Na_2HPO_4
1.00 g Glucose
5.00 g HEPES
加双蒸水至 500 ml，之后用 1 ml 左右 10 N NaOH 调节 pH 至 7.10。过滤，分装后 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存

致谢

本实验室的工作得到细胞增殖与分化重点教育部重点实验室、膜生物学国家重点实验室、生命科学联合中心、国家自然科学基金和科学技术部的资金支持。本实验方案改编自本实验室的发表文章 Du 等 (2016) 和 Liu 等 (2016)。

参考文献

- Du, J., Zhang, J., He, T., Li, Y., Su, Y., Tie, F., Liu, M., Harte, P. J. and Zhu, A. J. (2016). [Stuxnet facilitates the degradation of polycomb protein during development.](#) *Dev Cell* 37(6): 507-519.
- Liu, M., Li, Y., Liu, A., Li, R., Su, Y., Du, J., Li, C. and Zhu, A. J. (2016). [The exon](#)

[junction complex regulates the splicing of cell polarity gene *dlg1* to control Wingless signaling in development.](#) *Elife* 5: e17200.