

Drosophila S2 细胞 ; S2 昆虫细胞

细胞基本信息

细胞名称	Drosophila S2 细胞 ; S2 昆虫细胞
细胞品牌	金少源生物
细胞规格	1×10 ⁶ cells/T25 培养瓶
细胞英文	Drosophila S2 细胞
种属来源	果蝇
组织来源	胚胎
支原体检测	阴性
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	悬浮贴壁混合生长
生长条件	温度：26-28 度 气相：空气，不需要二氧化碳
传代方法	1：2 至 1：6，每周 2 次
培 养 基	注意使用条件培养基(用过的培养基)，一般可以加入 45%的条件培养基在配制的培养基里面。因为条件培养基中含有生长因子，有助于 S2 果蝇细胞生长。
冻存条件	45% 用过的完全培养基(条件培养基)+45% 新鲜完全培养基+10% DMSO，液氮储存
应用	该细胞可以作为转染宿主细胞
细胞简介	该 S2 昆虫细胞由金少源(上海)生物科技有限公司制备并提交，可用于基础研究和科研使用
细胞鉴定	免疫组化显示波形蛋白(Vimentin)抗体阴性；结蛋白(Desmin)抗体阳性。

发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)
供应范围	仅限于科研实验使用，不得用于其他用途

细胞说明

1. 细胞培养条件是 26℃-28℃，空气中即可，不用二氧化碳。在培养皿中是半贴壁细胞，在摇瓶中是悬浮细胞。
2. S2 果蝇细胞的完全培养基是：Schneider's Drosophila medium + 10% 热灭活胎牛血清+ 0.1% Pluronic F-68. 这个完全细胞培养基在瞬时表达和稳表达细胞系构建的时候，都可以使用。Pluronic F-68 在悬浮培养的时候需要加入，但是在贴壁培养的时候不用添加。可以选择性的加入终浓度为 50 单位/ml 的青霉素和 50 ug/ml 的链霉素。细胞转染和冻存的时候，需要确保细胞的活力大于 95%.
3. S2 果蝇细胞培养时倍增的时间是 24 小时，细胞进行传代的时候最好是在细胞对数生长期。
4. S2 果蝇胚胎细胞的冻存条件是： 45% 用过的完全培养基（条件培养基）+45% 新鲜完全培养基+10% DMSO，液氮储存。 用过的完全培养基（条件培养基）中含有 S2 果蝇细胞的生长因子，有助于 S2 细胞的生长，所以一定要保留一点用过的培养基在里面。
5. 培养 S2 细胞的时候，如果使用未灭活的胎牛血清，会抑制 S2 细胞的生长。
6. 果蝇 Schneider 2（s2）细胞可以转染表达载体用于蛋白瞬时表达或共转染一个筛选载体（例如 pcohygro 或 pcoblast）构建稳表达细胞系。我们建议你测试一下你的蛋白的瞬时表达情况，然后再构建稳表达细胞系。一旦你证明你的蛋白质在 s2 细胞中表达，你可以构建稳表达细胞株，增加蛋白表达，扩大蛋白表达的生产规模。果蝇 S2 稳表达细胞系通常包含多拷贝基因插入，形成 500 多个-1000 个拷贝数，首尾相接，插入的基因拷贝数可以通过改变表达质粒和选择质粒的比例来控制。我们建议使用表达质粒与选择质粒比例是的 19:1（w/w）。你可以改变比率以优化特定基因的表达。质粒转染建议使用磷酸钙，但一些脂基转染试剂，例如 Lipo2000 转染试剂同样适用。

7. 果蝇表达系统的筛选载体是 pCoHygro 载体和 pCoBlast 载体，他们分别含有潮霉素（Hygromycin）和杀稻瘟菌素（Blasticidin）筛选抗性。在这两个载体中，抗性基因都是在 Copia 启动子的作用下调控的。
8. 构建稳表达细胞系时，使用 pCoHygro 筛选质粒和表达质粒一起共转染 S2 果蝇细胞的时候，潮霉素的筛选浓度是 300ug/ml，一般要筛选 3-4 个星期。使用使用 pCoBlast 筛选质粒和表达质粒一起共转染 S2 果蝇细胞构建稳表达细胞系的时候，杀稻瘟菌素的筛选浓度是 25 ug/ml，一般要筛选 2 个星期就可以了。在筛选过程中，细胞死亡会经常发生。
- Gibco 果蝇 s2 细胞用于果蝇表达系统（DrosophilaM Expression System， DES）中异源蛋白的表达。S2 细胞系来源于黑腹果蝇（Drosophila melanogaster）胚胎后期细胞（20-24 小时）的原代培养。s2 细胞系的许多特征表明它来源于巨噬细胞样细胞系。s2 细胞在室温下二氧化碳浓度条件下就可以生长，在培养皿中呈松散的半粘附单层，在摇瓶中呈悬浮细胞状态。

细胞特征

1.用于蛋白质的瞬时表达或构建稳表达细胞系	果蝇 s2 细胞可单独用重组表达载体进行瞬时表达研究，或使用载体（如 pcohygro 或 pcoblast）以构建稳表达细胞系。有多种果蝇表达系统试剂盒可用于在 S2 细胞中表达感兴趣的重组蛋白。
2.细胞株质控标准	每批 S2 细胞都经过冷冻后细胞生长和活力测试。此外，还对 S2 细胞株进行了细菌、酵母菌、支原体和病毒污染检测，并对其进行了同工酶和核型分析。

接受后处理

处理 1	收到细胞后，请检查是否漏液，如果漏液，请拍照片发给我们
处理 2	请先在显微镜下确认细胞生长状态，去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37℃培养约 2-3h

处理 3	弃去 T25 瓶中的培养基，添加 6ml 本公司附带的完全培养基
处理 4	如果细胞密度达 80%-90%请及时进行细胞传代，传代培养用 6ml 本公司的完全培养基
处理 5	接到细胞次日，请检查细胞是否污染，若发现污染或疑似污染，请及时与我们取得联系

细胞操作

复苏细胞	将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入 4mL 培养基混合均匀。 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 10cm 皿中，加入约 8ml 培养基，培养过夜）。 第二天换液并检查细胞密度。
细胞传代	如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养:
	1.弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
	2.加 1ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于 37℃培养箱中消化 1-2 分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。
	3.按 6-8ml/ 瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
	4.将细胞悬液按 1：2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。
细胞冻存	待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:
	1. 弃去培养基后，PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 1ml 含血清的培养基终止消化，可使用血球计数板计数。
	2. 4 min 1000rpm 离心去掉上清。加 1ml 血清重悬细胞，根据细胞数量加入血清和 DMSO，

	轻轻混匀，DMSO 终浓度为 10%，细胞密度不低于 1x10 ⁶ /ml，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
	3. 将冻存管置于程序降温盒中，放入-80 度冰箱，2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。
注意事项	1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。
	2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致。若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。
	3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题贴壁细胞会有少量从瓶壁脱落，将细胞置于培养箱内静置培养 4~6 小时,再取出观察。此时多数细胞均会贴壁，若细胞仍不能贴壁请用台盼蓝染色测定细胞活力，如果证实细胞活力正常， 请将细胞离心后用新鲜培养基再次贴壁培养；如果染色结果显示细胞无活力，请拍下照片及时和我们联系，信息确认后我们为您再免费寄送一次。
	4. 静置细胞贴壁后，请将细胞瓶内的培养基倒出，留 6~8mL 维持细胞正常培养，待细胞汇合度 80%左右时正常传代。
	5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养，培养瓶内多余的培养基可收集备用，细胞传代时可以一定比例和客户自备的培养基混合，使细胞逐渐适应培养条件。

细胞备注

1) 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于本公司技术部沟通交流。
2) 如果细胞在运输中出现问题，可能个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
3) 金少源生物客户在细购买细胞过程中各种问题，可以随时拨打免费服务电话 4008-723-722，我们随时给予实验中的解答。

细胞予重发

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。

细胞不予重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。

4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。

金少源(上海)生物科技有限公司提供的细胞仅供科研使用