

## HEK-293T-ACE2 Cell Line

### HEK-293T-ACE2 过表达细胞株

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格	
HEK-293T-ACE2 Cell Line	HEK-293T -ACE2 过表达细胞株	41107ES03	1 mL (5E6 Cells/mL)

#### 产品描述

ACE2 即血管紧张素转化酶 II (Angiotensin-converting enzyme 2)，是 I 型整合膜蛋白，广泛分布于肺部、心脏和肾脏等组织，可以调节血压和体液平衡；同时也是冠状病毒的功能受体，介导病毒入侵和细胞融合。ACE2 主要包括 N 端 PD 区 (Peptidase domain) 和 C 端 CLD 区 (Collectrin-like domain)，其中位于胞外的 PD 区可结合新冠病毒 S 蛋白的 RBD (Receptor binding domain)，且在特定蛋白酶的帮助下，S 蛋白可诱导 ACE2 胞外区脱落，继而由 ACE2 胞内结构来帮助病毒的入侵和感染。

本细胞系是将 ACE2 过表达慢病毒感染 293T 细胞并筛选得到的稳定株。

#### 产品组分

产品编号	规格	数量	保存条件
41107ES03	1 mL (5E6 Cells/mL)	1 管	-80 °C 保存

#### 运输与保存方法

干冰运输。收到之后如不立即复苏，请立即转入液氮储存。

**【注】**：收到产品后，请确认产品是否为冻存状态。

#### 注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
2. 本产品相关实验操作，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

#### 使用方法

##### 1. 细胞复苏

- 1) 在 37 °C 水浴锅预热培养基，将 9 mL 预热完全培养基加入到 15 mL 离心管中；
- 2) 从液氮中取出冻存的细胞 (5E6 Cells/mL) 并迅速放入 37 °C 水浴锅中，将细胞液面浸至水面以下，轻轻摇动至融化；
- 3) 用 70% 乙醇擦拭冻存管外部以降低污染的几率；
- 4) 在生物安全柜内将冻存管中的细胞悬液转移到预先加有预热好的 15 mL 离心管中轻轻混匀，800 rpm 离心 5min，使细胞沉淀，弃上清。
- 5) 使用 15 mL 培养基重悬细胞，此时活细胞密度应为 2E5-3E5 Cells/mL。可取出部分细胞并使用台盼蓝染色计数活细胞。
- 6) 将细胞接种到 1 个 10 cm 培养皿 (10 mL，培养面积 78 cm<sup>2</sup>) 和 1 个 6 cm 培养皿 (5 mL，培养面积 28 cm<sup>2</sup>) 中，细胞密度应：20~30%。
- 7) 放入 37 °C 恒温培养箱中孵育 24 h，镜下观察细胞贴壁情况，如已贴壁，根据细胞密度小心更换培养基或进行细胞传代。当细胞密度大于 60% 时，即可进行传代，细胞密度不可大于 80%。如未完全贴壁，继续孵育至 48 h。

8) 首次复苏后, 约 48 h 可进行第一次传代。

**【注】：推荐细胞培养基和冻存液如下：**

细胞生长培养基:	90% DMEM+10% FBS+1%双抗+0.75 $\mu\text{g/mL}$ 嘌呤霉素
细胞冻存培养基:	90%FBS+10%DMSO

## 2. 细胞传代

1) 使用 0.25% Trypsin-EDTA 消化 30-60 s

2) 贴壁细胞按细胞密度 (汇合度) 进行传代, 推荐细胞传代比例为 1:4-1:5, 隔天传代。

**【注】：**细胞密度大于 60%即可进行传代, 细胞密度不可高于 80%。

3) 吸出培养皿或培养瓶中的细胞培养液, 用适量的 PBS 润洗 1~3 次。

4) 弃 PBS, 加 1 mL 细胞消化液, 于 37 °C 培养箱中消化 30~60 s, 镜下观察待细胞变圆, 细胞间隙明显, 部分细胞刚开始脱离瓶壁。

5) 加 2 mL 左右完全培养液混匀终止消化, 将细胞小心吹打下来, 室温离心 800 rpm 、 5 min。

6) 弃上清, 细胞沉淀用完全培养液重悬, 根据传代前细胞密度分盘 (根据培养皿面积和细胞密度计算, 传代后细胞密度为 20-30%)。

**【注】：**贴壁细胞典型密度与细胞数量如下：

培养皿	培养基 ( mL )	面积 ( $\text{cm}^2$ )	接种细胞量 ( 个 )	汇合度 100%
35 mm Dish	2	9.6	$3.2 \times 10^5$	$1.3 \times 10^6$
60 mm Dish	5	28	$7.8 \times 10^5$	$3.1 \times 10^6$
100 mm Dish	10	78	$2.3 \times 10^6$	$9.0 \times 10^6$
T-25 Flask	5	25	$6.9 \times 10^5$	$2.6 \times 10^6$
T-75 Flask	10	75	$2.1 \times 10^6$	$8.4 \times 10^6$

## 3. 细胞冻存

1) 2×细胞冻存液: 80%FBS+20%DMSO

2) 细胞计数后, 1000 rpm, 3 min 离心收集细胞;

3) 使用预冷的 FBS 调节细胞密度至 2×;

4) 加入与 FBS 等体积的 2×细胞冻存液, 轻轻混匀;

5) 每管 1 mL 分装到细胞冻存管中, 冻存体积为 1 mL, 冻存密度为  $5 \times 10^6$  cells/mL;

6) 标记后, 将细胞冻存管置于梯度降温盒中, 在 -80 °C 下保存至少 1 天, 尽快转移至液氮中。