

## ACE2 Stable Expression Cell Line (293T)

### 一、细胞简介

细胞名称	ACE2 Stable Expression Cell Line (293T)
细胞货号	Delf-28859
形态特性	上皮样，贴壁生长
培养条件	DMEM 培养基+90% (货号: Delf-16563)； 优质胎牛血清+10% (货号: Delf-11405)；
半药浓度	Puro=1 $\mu$ g/mL 注意：为了维持基因表达量的稳定，建议传代时带药培养。
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳 5%。 温度：37°C，培养箱湿度为 70%-80%。

### 二、细胞复苏方法

复苏步骤	1)准备工作：将完全培养液置 37°C 水浴锅预热 30 分钟，随后将冻存的细胞从液氮中取出，转移 到-80°C 冰箱，放置数分钟让残余液氮挥发； 2)在超净台内用吸管吸取 6-7 mL 完全培养液至 15 mL 离心管中； 3)将细胞从-80°C 冰箱取出暂时放置于干冰里，复苏时稍稍甩动，去除残留的干冰和液氮，再迅速 用镊子夹住盖子放入 37°C 水浴中快速晃动(注意：水不能没过盖子)，使其在 1 分钟左右完全 融化； 4)在超净台内，用酒精棉球擦拭冻存管外壁消毒，稍稍晾干。用单道移液器将所有融化的细胞悬液 转至提前准备好的完全培养液中，盖上盖子，1100 rpm 室温离心 4 分钟收集细胞； 5)超净台内小心吸弃上清，用单道移液器吸取 1 mL 新鲜完全培养液重悬细胞至单细胞悬液，再转 移至装有 4 mL 完全培养液的 T25 cm <sup>2</sup> 培养瓶(或者 6cm 的皿)中，写上细胞名称、复苏日期、 代次，放置 37°C、5% CO <sub>2</sub> 饱和湿度培养箱内培养。 <b>注意：请勿直接复苏到 T75 cm<sup>2</sup> 瓶或 10cm 的皿。</b>
------	---

### 三、细胞传代方法

传代比例	1:3~1:6 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)
传代方法	1)常规细胞长至 80%-90%汇合度即可传代。在超净台内把培养瓶里的培养液倒至废液缸，用 1× PBS (T25cm <sup>2</sup> 培养瓶添加约 2~3mL, T75 cm <sup>2</sup> 培养瓶约 4~5mL) 洗涤细胞 1~2 次，以去 除残余的培养液和血清(血清含有胰酶的抑制因子)； 2)加入相应体积的胰酶溶液，具体参考附表 1, 轻轻晃动瓶子并使胰酶完全浸过细胞，将培养瓶放 入培养箱孵育 1~2 分钟(若细胞难以消化，可适当延长孵育时间)，待在显微镜下观察到大部 分细胞变圆不贴壁，轻轻晃动和敲击培养瓶两侧有大量细胞脱离时，立即终止消化； 3)加入 2 倍胰酶体积的完全培养液终止消化，并轻吹打细胞数次，使所有细胞彻底脱壁； (注意： 吹散细胞时注意要轻柔，尽量不产生气泡或尽可能产生少量气泡。)； 4 ) 用 10 mL 移液管转移细胞悬液到一支 50 mL 离心管中，同一批次的细胞可以合并

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



	<p>收集在一起，视情况用适量 PBS 将培养瓶里的残余细胞洗下来，一起加到 50mL 离心管中。盖上盖子，做好标记；</p> <p>5) 1100rpm 室温离心 4 分钟，离心后，打开盖子弃上清，加 2mL 完全培养基重悬细胞；        6) 细胞按照一定的接种比例传代，首次按照 1:3 进行传代，若细胞在两天内长满可增加传代比例，若细胞生长三四天还未长满，可适当缩小传代比例。</p>
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程

#### 四、细胞冻存方法

冻存液配方	冻存液：50%DMEM+40%FBS+10%DMSO，现用现配。
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
冻存方法	<p>1) 按细胞传代的方法，在超净台内把培养瓶里的细胞进行消化至单细胞悬液，加入培养基终止反应。所有液体转移到一支 50 mL 离心管中。</p> <p>2) 用移液管吹打混合均匀，取 20 <math>\mu</math>L 进行细胞计数；</p> <p>3) 1100rpm 室温离心 4 分钟，离心后，打开盖子倒去上清，用 1~2 mL 4°C 预冷的冻存液重悬细胞，随后加入冻存液调整至密度为 <math>1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7</math> 个细胞/mL。</p> <p>4) 将细胞悬液按 1 mL/ 管平均分装至冻存管中，旋紧盖子，冻存管应提前贴好细胞名称、细胞代次、数量、冻存日期；</p> <p>5) 将冻存管放置于 4°C 预冷的程序降温盒中，并在冻存结束的 15 分钟之内将程序降温盒放置超低温冰箱内；</p> <p>6) 过夜后，将冻存细胞转移至液氮罐内保存。</p>

#### 五、注意事项

注意事项	1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。  2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管淹没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。  3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂 (100x) 100ml Delf-28683 2、DELF 水浴锅除菌剂 (1000x) 100ml Delf-28682 3、DELF 细胞污染高效清除剂 (2000×) 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul Delf-11609 5、DELF 支原体清除试剂(1000x) 1ml Delf-17027		

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

