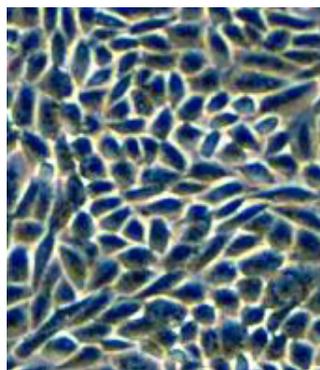


一、产品信息

名称: hACE2-CHO 细胞
货号: THJ-hACE2-01
规格: 10^6 /mL
类型: 贴壁生长
形态: 在培养液中贴壁, 上皮样细胞



二、细胞介绍

本产品是在 CHO 细胞基因组中预先找到高表达“热点”, 采用 Toggle In 方法将人源 ACE2 定点整合入 CHO 细胞“热点”。为客户更加深入研究 hACE2 受体, 全面地阐释病毒入侵机制, 治疗新型冠状病毒药物及疫苗研发提供细胞模型。

本细胞株可与 SARS-CoV-2 假病毒联用, 作为测定中和抗体效价的细胞评价体系【1】。

三、Toggle In 技术优势

1、高表达位点的定点整合:

在 CHO 细胞基因组中预先找到高表达“热点”, 采用 Cre-LoxP 同源重组方法定点整合, 因染色体结构开放而始终恒定表达。各细胞克隆之间性质完全相同 (isogenic)。

2、按特定比例 (Stoichiometry) 同时表达多个基因:

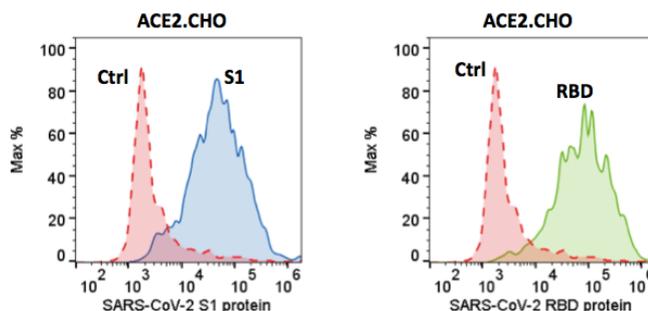
按 Toggle In 方法, 外源基因克隆在 pTOG3 和 pTOG4 载体中, 每次都外源基因整合到指定高表达热点。外源基因的表达比例完全可控, 适用于多亚基蛋白复合物 (例如各种受体复合物, 酶亚单位等) 的同时等比例表达。

3、仅仅需要 2 个抗生素筛选基因, 循环使用, 可实现连续无上限打靶。

4、近乎 100% 打靶效率, 2 周筛选后, 细胞池即可用。

四、细胞功能鉴定

hACE2-CHO 细胞胰酶消化单悬后, 与哺乳动物细胞重组表达的 His tagged 新冠病毒 S1 蛋白或 RBD 蛋白孵育, 继而用抗新冠病毒刺蛋白抗体 Anti-SP-hIgG1 (THJ-anti-SP-hIgG1-01) 染色, 并用 FITC 标记的羊抗人 IgG 二抗续染。FACS 图谱见右。



五、产品运输和保存

冻存细胞装于 2mL 的冻存管中, 置于装满干冰的保温盒中进行运输; 收到细胞后请尽快复苏细胞进行培养。如无法立刻进行复苏操作, 将冻存细胞存放于液氮罐或 -80°C 冰箱中。

六、产品使用

1、细胞生长环境：37℃，5% CO₂，细胞培养液：95%DMEM+5%FBS，DMEM：DMEM高糖培养液，含谷氨酰胺和抗生素。

2、传代培养：

- 观察细胞的生长状态，细胞铺展，细胞大小均匀，生长状态良好，细胞长至 80%满进行传代；
- 吸除旧培养液，用 DPBS 洗涤细胞；
- 加入适量胰酶，于倒置显微镜下观察，当细胞将要分离而呈现圆粒状时，加入适量含 5%血清的新鲜培养基终止胰酶作用；
- 无需离心去除胰酶，可直接吸取适量新鲜培养基将细胞轻轻吹起，移液管上下吹吸数次以打散细胞团块，混匀后，依稀释比例转移至新的培养瓶中。置于 37℃二氧化碳培养箱静置培养。

3、细胞冻存：

- 配制含 8-10%DMSO+ 92-90%FBS 胎牛血清的冻存液；
- 取对数生长期的细胞，胰酶消化单层生长的细胞，将细胞移至 15ml 离心管中，离心 1200 rpm×5min；
- 去除胰酶及旧的培养液，加入适量配制好的冻存液，用吸管轻轻吹打使细胞均匀，计数，调节冻存液中细胞的最终密度为 3~5×10⁶/mL；
- 将细胞分装入冻存管中，每管 1 mL；
- 在冻存管上标明细胞的名称，传代代数及冻存时间；
- 将细胞置于程序降温盒中，放入-80℃冰箱中过夜；
- 次日取出冻存管，移入液氮容器内。

4、细胞复苏：

- 从液氮容器中取出冻存管，浸入 37℃水浴锅中，并不时摇动令其尽快融化；
- 从 37℃水浴锅中取出冻存管，用移液管吸出细胞悬液，无需离心洗涤，可直接加入含 5% FBS 培养液重悬细胞，计数，调整细胞密度，接种培养皿，37℃二氧化碳培养箱静置培养。

5、本产品仅用于科研。

【参考文献】

[1] Xiuyuan Ou et al., (2020), Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. Nature Communication, DOI:10.1038/s41467-020-15562-9.