

凍結株化細胞製品

human ACE2-RFP expressing HEK293 cells

【品番：COV02C】

2024年7月1日改訂

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

I. 製品概要

アンジオテンシン変換酵素 2 (Angiotensin converting enzyme 2、ACE2) は、新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の感染における受容体として知られています。本製品はヒト胎児腎細胞株 HEK293 を遺伝子改変し、ヒト ACE2 を安定的に発現させた細胞株です。ヒト ACE2 は赤色蛍光タンパク質 RFP との融合タンパク質として発現し、改変にはウイルスベクターではなくプラスミドベクターを使用しています。

Catalog Number	COV02C
Cell Line Name	human ACE2-RFP expressing HEK293 cells
Gene Synonyms	ACE2, ACEH
Expressed Gene	Identical with the NM_021804 sequence
Expressed Tag	RFP ; Red Fluorescent Protein, C-terminus
Antibiotic	Hygromycin
Host Cell	HEK293

II. 使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品のご購入には当社との試料移転契約 (MTA; Material Transfer Agreement) の締結が必要です。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。バイオセーフティーレベルは【レベル 1】です。

III. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、マニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。当社、製品サポート (メール: primarycell@cosmobio.co.jp) までご連絡下さい。

保証期限は【製品お受け取りから 6 ヶ月以内】です。

使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

IV. 製品構成

構成	容量	本数	保存方法	有効期限
human ACE2-RFP expressing HEK293 cells (凍結細胞)	2×10^6 cells/vial	1 本	液体窒素保存	6 ヶ月

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素にて保存してください。

※本製品に関し、自己の研究目的にのみ使用し、細胞の第三者への提供 (分配、貸与、譲渡、使用許可等) を禁止します。

V. 推奨培地

以下の培地をご用意ください。

Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (w/ L-Glutamine, 4.5 g/L Glucose and Sodium Pyruvate) ,10% FBS, Penicillin/Streptomycin

VI. 使用方法

細胞解凍・播種

1. あらかじめ 37°C 温水で温めた培地 9 mL を 15 mL 遠沈管に入れておきます。
 2. 凍結細胞のバイアルを 37°C 温水にて加温して、すみやかに解凍します。
 3. 解凍した細胞液を培地 9 mL が入った 15 mL 遠沈管に移して穏やかに混和します。遠沈管内の培地 1 mL を分取し、バイアル内を共洗いして細胞液を回収します。
 4. 室温下で、200×g で 3 分間遠心します。
 5. 遠心後に上清を除去し、10 mL の培地を加えて細胞を懸濁します。
 6. 細胞懸濁液を全量 100 mm シャーレに播種し、5% CO₂ 存在下の 37°C インキュベーターで培養します。
- ※本細胞は剥がれやすいため、必要に応じて播種する培養器材のコーティングを行ってください。

細胞継代

1. 70~90%コンフルエントになった細胞を CO₂ インキュベーターから取り出します。
2. 上清を吸引除去し、HBSS(-)もしくは PBS(-)を>5 mL (100 mm シャーレの場合) 添加し、シャーレを洗浄します。※本細胞は剥がれやすいため注意して操作して下さい。
3. HBSS(-)もしくは PBS(-)を吸引除去し、0.05% Trypsin を 1 mL (100 mm シャーレの場合) 添加し、室温で静置します。
4. 全ての細胞が剥がれたら、37°C に加温した培地を>4 mL 添加します。
5. 穏やかに細胞を懸濁し、15 mL 遠沈管に回収します。
6. 室温下で、200×g で 3 分間遠心し、遠心後上清を吸引除去します。
7. 培地を 5 mL 添加し、細胞を懸濁します。
8. 必要な量の細胞を、あらかじめ加温した培地入りの新しい 100 mm シャーレに播種します。
9. 5%CO₂ 存在下の 37°C インキュベーターで培養します。細胞が 70~90%コンフルエントになった状態で同様に継代を行います。

凍結ストックの調製

培養開始後、細胞が正常に増殖したらなるべく継代数の少ないうちに凍結ストックを作製することを推奨します。

1. 細胞継代方法の 1~5 を行います。
2. 細胞数を数え、必要な量を別の 15 mL 遠沈管に移します。
3. 室温下で、200×g で 3 分間遠心し、遠心後上清を吸引除去します。
4. COS banker (KOJ、品番：COS-CFM01) を細胞密度が 1~2×10⁶ cells/mL になるように加えて懸濁します。
5. 凍結保存用バイアルに 1 mL/チューブで分注し、細胞凍結用コンテナを用いて-80°C で凍結保存します。
6. 1 日以上-80°C にて静置後、液体窒素中に移してください。

VII. 注意点

- 本細胞は剥がれやすいため、PBS(-)等による洗浄、培地交換時には注意して下さい。
- 培養中もしくは細胞を用いたアッセイ中に細胞が剥がれてしまう場合には、培養器材のコーティング (例：ε-ポリ-L-リジン、PMC、品番：SPL01) を行って下さい。
- 継代を重ねると細胞の形質が変化する可能性があります。

VIII. 技術情報

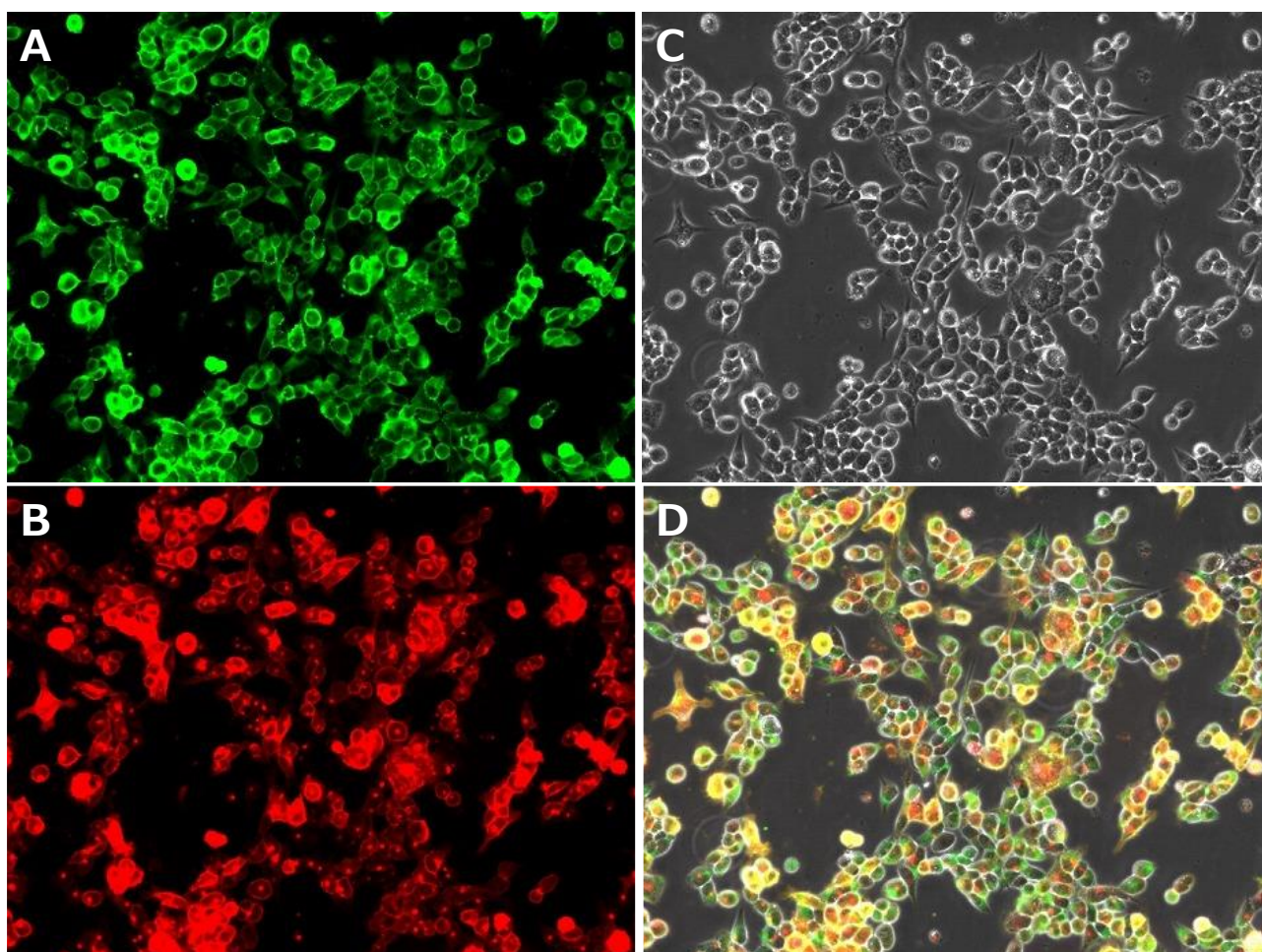


図1：A) 免疫染色写真（抗 ACE2 抗体（PGI、品番：21115-1-AP）、B) RFP、C) 位相差像、D) A, B, C の重ね合わせ像

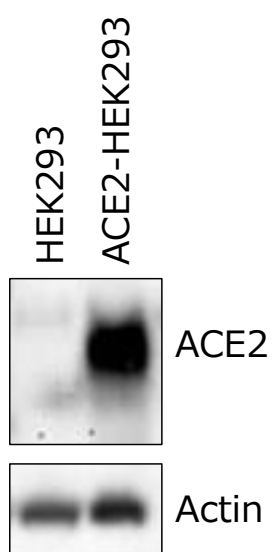


図2：抗 ACE2 抗体を用いたウェスタンブロット結果