

产品手册

H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line

H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat 细胞系

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V2.12.1

目录

一、	产品基本信息及组分.....	3
二、	包装、运输及储存.....	3
三、	产品描述.....	4
四、	传代稳定性验证结果.....	5
五、	材料准备.....	6
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	6
2.	试剂耗材准备.....	6
六、	细胞复苏、传代、冻存.....	7
1.	细胞复苏.....	7
2.	细胞传代.....	7
3.	细胞冻存.....	7
七、	使用方法（示例）.....	8
1.	Assay 验证实验.....	8
1)	加样步骤.....	8
2)	报告基因检测.....	9
3)	验证结果.....	10
附录：	流式稳定性验证结果.....	10
相关产品		10
使用许可协议：		11

一、产品基本信息及组分

基本信息

产品编号	产品名称	规格
GM-C39599	H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C39599	H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C

二、包装、运输及储存

1. 细胞系产品干冰运输，-196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
2. 接触产品请带手套。请收到产品立即确认产品是否为冻存状态，-196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
3. 本产品相关 Assay，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、 产品描述

血液树突细胞抗原 2(BDCA2)是一种在人浆细胞样树突细胞(pDC)上表达的 C 型凝集素,与红斑狼疮的发病机制有关。BDCA2 由在其 C 端的单个胞外碳水化合物识别域 (CRD)(其属于 II 类 C 型凝集素组)、跨膜区和在其 N 端的短胞质尾区(其不含信号基序)组成。BDCA2 通过相关的跨膜衔接子 FcεR1γ 传播胞内信号,并诱导 B 细胞受体(BCR)样信号传导级联。

吉满生物 H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line 报告基因细胞系,稳定表达 BDCA2 等基因。当 BDCA2 激动剂与 BDCA2 受体结合时,激活下游报告基因,促进荧光素酶 (Luciferase) 的表达。通过测量 Luciferase 活性,可客观评估信号通路的激活效果,为 BDCA2 靶向药物的筛选和验证提供重要参考。此外,通过大量单克隆、多轮单克隆等筛选,获得的具有高稳定特性同时兼具高灵敏性、高倍率性的优选单克隆。可以满足客户批量建库、放行实验等标准。

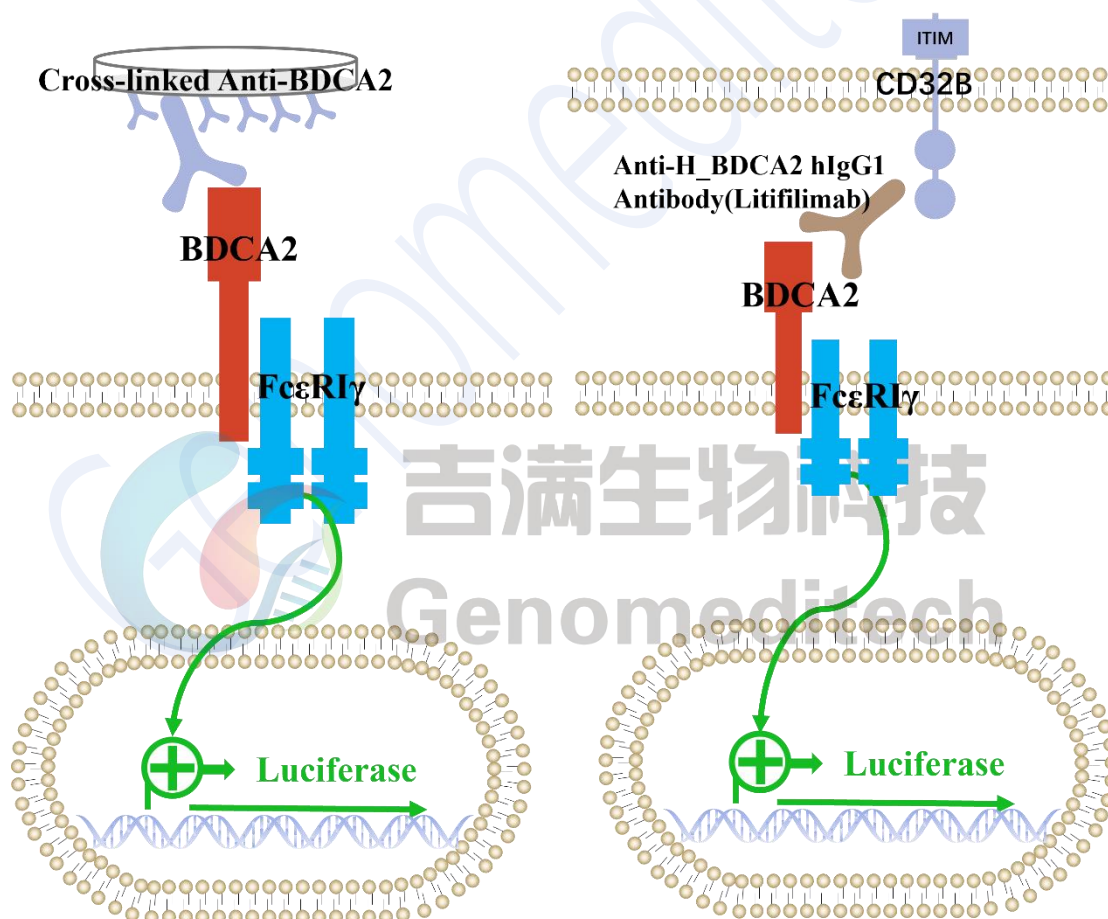


Fig 1. 信号通路图

四、 传代稳定性验证结果

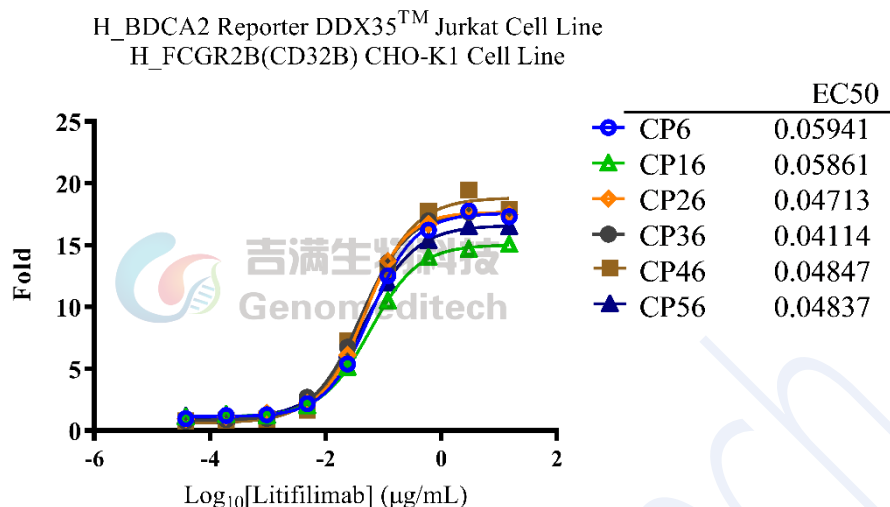


Fig 2. 制备 Anti-H_BDCA2 hIgG1 Antibody(Litifilimab) (Genomeditech/#GM-31294AB) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 配置 H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 Cell Line (Genomeditech/# GM-C16925), 每孔细胞量 1×10^4 个; 提前 1-2 h 配置 H_BDCA2 Reporter DDX35TM Jurkat Cell Line (Genomeditech/# GM-C39599), 每孔细胞量 1×10^5 个。取出准备好的 H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 细胞孔板, 吸弃上清, 然后分别加入 50 μ L 梯度稀释 Litifilimab 溶液、50 μ L H_BDCA2 Reporter DDX35TM Jurkat 细胞, 孵育 16 h 后检测 Luciferase 数值, 使用 GraphPad 系统进行数据分析, 纵坐标转换为倍率。结果显示, 不同代次间倍率、EC50 数值稳定。

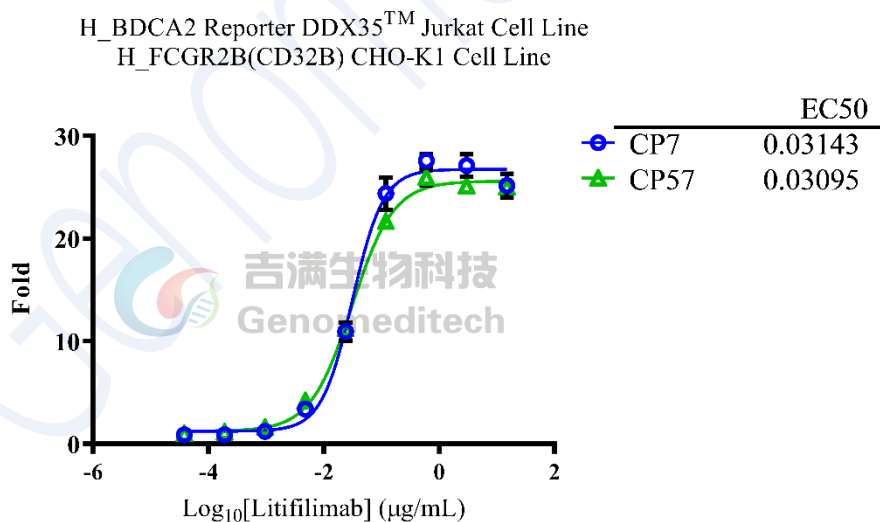


Fig 3. 制备 Anti-H_BDCA2 hIgG1 Antibody(Litifilimab) (Genomeditech/#GM-31294AB) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 配置 H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 Cell Line (Genomeditech/# GM-C16925), 每孔细胞量 1×10^4 个; 提前 1-2 h 配置 H_BDCA2 Reporter DDX35TM Jurkat Cell Line (Genomeditech/# GM-C39599), 每孔细胞量 1×10^5 个。取出准备好的 H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 细胞孔板, 吸弃上清, 然后分别加入 50 μ L 梯度稀释 Litifilimab 溶液、50 μ L H_BDCA2 Reporter DDX35TM Jurkat 细胞, 3 复孔, 孵育 16 h 后检测 Luciferase 数值, 使用 GraphPad 系统进行数据分析, 纵坐标转换为倍率。结果显示, CP7 代与 CP57 代倍率、EC50 数值稳定。

五、 材料准备

1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基:	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S+3.5 µg/mL Blasticidin+400 µg/mL G418+0.75 µg/mL Puromycin
细胞冻存液:	90% FBS+10% DMSO
Assay Buffer:	RPMI 1640+1% FBS+1% P.S

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
RPMI 1640	500 mL	Gibco/C11875500BT
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Blasticidin	10 mg	Genomeditech/GM-040404-1
G418	1 g	Genomeditech/GM-040402-1
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
96 Well Clear V-Bottom Tissue Culture	96-well	Corning/3894
96 well round well culture plate	96-well	NEST/701001
96 well White Flat Bottom Polystyrene Not Treated	96-well	Corning/3912
Microplate		
H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 Cell Line	1 管 (5E6 Cells/mL)	Genomeditech/GM-C16925
Anti-H_BDCA2 hIgG1 Antibody(Litifilimab)	/	Genomeditech/GM-31294AB
GMOne-Step 2.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit	1000T	Genomeditech/GM-040513C

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
酶标仪	Moleculardevices/SpectraMax L

六、细胞复苏、传代、冻存

1. 细胞复苏

- 37°C水浴锅预热复苏培养基，加入预热后的复苏培养基 5 mL 至 15 mL 离心管。
- 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37°C 恒温水浴锅，将细胞液面浸至水面以下轻轻摇动解冻，直到刚刚融化（通常 2-3 分钟）。
- 用 70%乙醇擦拭冻存管外部以降低污染的几率。在生物安全柜或超净台中将冻存管中的细胞悬液转移到步骤 a) 的离心管中，轻轻混匀， $176 \times g$ ，离心 5 min，使细胞沉淀，弃上清。
- 使用 1 mL 复苏培养基重悬，可取出部分使用台盼蓝染色计数活细胞，细胞 $\geq 3 \times 10^6$ cells/mL。
- 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 $4-6 \times 10^5$ cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞悬液接种至 1-2 个 T25 中（3-5 mL 悬液），竖瓶培养。

3. 细胞冻存

- 使用 $176 \times g$ ，3 min 离心收集细胞。
- 使用预冷细胞冻存液（90% FBS + 10% DMSO）重悬细胞，细胞密度调整为 5×10^6 cells/mL，每管 1 mL 分装到细胞冻存管中。
- 拧紧盖子，适当标记后，将冻存管置于梯度降温盒中，-80°C 下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

2. 细胞传代

注：细胞复苏后的 1 至 2 代，使用复苏培养基，待细胞状态稳定后，再更换为含有抗生素的生长培养基。

- 此细胞为淋巴细胞状，悬浮生长。
- 首次复苏后，约 48-72 h 可进行第一次传代，此次传代后细胞培养基可调整为添加抗生素的生长培养基。若 48 h 未传代，建议适当补加复苏培养基，瓶体改为横向放置。
- 当细胞密度达到 $1.5-2 \times 10^6$ cells/mL，1 传 3，隔 2-3 天继续传代，不要让其密度超 2×10^6 cells/mL，推荐使用 T25 瓶进行传代培养。
- 该细胞为悬浮细胞，传代时推荐使用【半换液法】对细胞状态较为有利。传代时可以直接向培养瓶中添加生长培养基，然后将细胞吹打均匀后移入新的 T25 培养瓶中继续培养。

注意事项：

- 该细胞对密度较为敏感，培养、传代时请注意保持细胞密度在合适的范围。
- 首次传代时注意营养，不处理时务必隔天适当补加复苏培养基。
- FBS 血清需 56°C 加热 30 分钟，可灭活补体和部分病毒，但不显著影响大多数生长因子和细胞因子活性。

七、 使用方法（示例）

1. Assay 验证实验

操作步骤可根据示例调整优化, 对于本次实验, 推荐 H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line 细胞量为 1×10^5 cells/孔、H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 Cell Line 细胞量为 1×10^4 cells/孔。本次实验使用 Anti-H_BDCA2 hIgG1 Antibody(Litifilimab) (以下简称 Litifilimab) 作为阳性药物, Conc.01 浓度为 $15 \mu\text{g/mL}$, 5 倍梯度稀释, Conc.01-Conc.09 分别排布在 B2-B10, B11 为 0 浓度对照。周围孔加入 $100 \mu\text{L}$ PBS, 以防止边孔蒸发。

孔板布局:

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
B	Litifilimab	PBS	15.00 $\mu\text{g/mL}$	3.00 $\mu\text{g/mL}$	600.00 ng/mL	120.00 ng/mL	24.00 ng/mL	4.80 ng/mL	960.00 pg/mL	192.00 pg/mL	38.40 pg/mL	0	
C		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D													
E													
F													
G													
H													

1) 加样步骤

- 在实验前 16-24 h, 将 H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 Cell Line 细胞从培养瓶中取出, 消化离心收集细胞沉淀, 使用适量完全培养基重悬细胞, 检测细胞活力并计数, 再以完全培养基调整细胞浓度为 1×10^5 cells/mL。以排枪加 $100 \mu\text{L}$ 细胞/孔至中间孔。周围的孔加 $100 \mu\text{L}$ PBS。盖上板盖, 于孵箱中孵育过夜。
- 实验前 1-2 h, 离心收集 H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line, 以 Assay Buffer 重悬细胞, 计算细胞密度及活力, 通过补加 Assay Buffer 的方式, 调整 H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line 到 2×10^6 cells/mL。
- 使用 1 个无菌 96 孔 V 底板准备药物稀释。
- 每个待测抗体, 使用一行 (如 B2-B10)。
- 母液准备

药物名称	储液	母液	配置方法
------	----	----	------

Litifilimab	4.566 mg/mL	/	直接使用储液
-------------	-------------	---	--------

- f) 96 孔 V 底板中，加入 Assay Buffer，各孔体积见下表，如 B2 孔加入 75 μ L Assay Buffer，B2-B11 孔，加入 60 μ L Assay Buffer。
- g) 吸取不同体积的待测样品母液，加入到第一个梯度稀释孔中（如 B2 中加入 0.5 μ L Litifilimab），混匀。

母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 15 μ L，加入次孔										对照组	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0.5 μ L Litifilimab	加入	75 μ L	60 μ L	60 μ L	60 μ L	60 μ L	60 μ L	60 μ L	60 μ L	60 μ L	60 μ L	

- h) 从第一个稀释孔 B2 中吸取 15 μ L，加入到第二个稀释孔 B3，充分混匀。
- i) 以此类推，直至第 9 梯度稀释孔（B10）。
- j) 将步骤 a 孵育过夜的细胞孔板取出，吸弃上清。然后加入步骤 i 梯度稀释好的药物，每孔 50 μ L。
- k) 再加入步骤 b 准备好的 H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line 溶液，每孔 50 μ L。
- l) 盖上板盖，于 37 °C CO₂ 培养箱中培养 16 h。
- m) 使用报告基因检测试剂盒，检测 Luciferase。

2) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_BDCA2 Reporter DDX35™ Jurkat Cell Line	0 μ g/mL	15.00 μ g/mL	38.40 μ g/mL
+ H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 Cell Line	4935	110587	5395

3) 验证结果

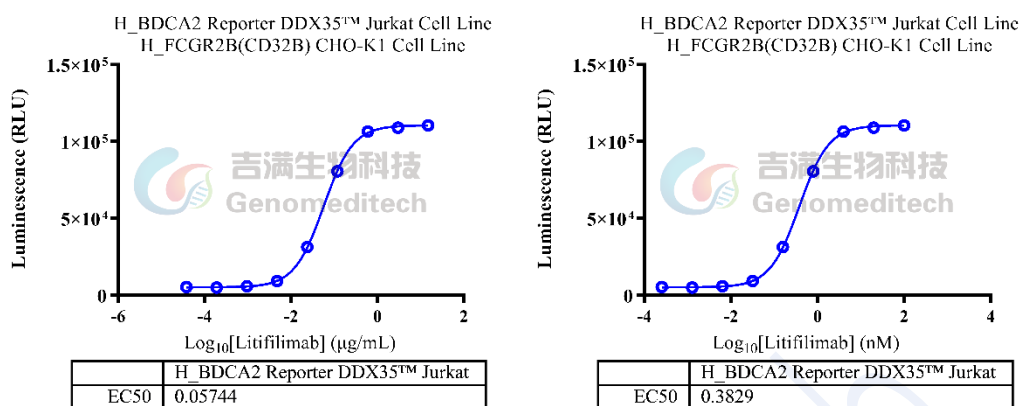


Fig 4. 验证结果

附录：流式稳定性验证结果

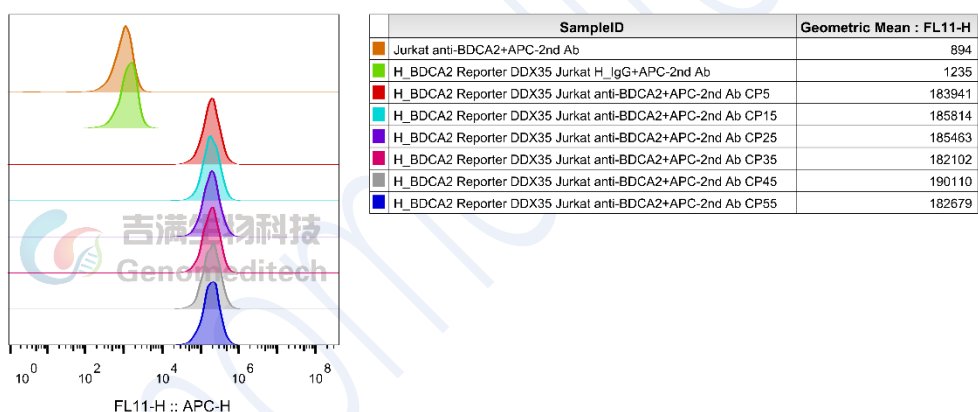


Fig 5. 使用 Anti-H_BDCA2 hIgG1 Antibody(Litilimab) (Genomeditech/GM-31294AB)抗体流式稳定性验证结果

相关产品

CD40:CD40L	
H_CD40(TNFRSF5) Reporter 293 Cell Line	H_CD40(TNFRSF5) Reporter Jurkat Cell Line
Cynomolgus_CD40 CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_CD40L CHO-K1 Cell Line
H_CD40(TNFRSF5) CHO-K1 Cell Line	H_CD40(TNFRSF5) HEK-293 Cell Line
H_CD40L CHO-K1 Cell Line	H_CD40L HEK-293 Cell Line
Rabbit_CD40L NIH-3T3 Cell Line	
Anti-CD40L hIgG1 Reference Antibody (Frebio)	Anti-H_CD40 hIgG1 Antibody(APX005M)
Anti-H_CD40 hIgG1 Antibody(ravagalimab)	Anti-H_CD40L hIgG1 Antibody(dapirolizumab)
Anti-H_CD40L hIgG1 Antibody(frexalimab)	
Biotinylated Human CD40 Protein; His-Avi Tag	Cynomolgus CD40 Protein; His Tag

Human CD40 Protein; His Tag	Human CD40L Protein; His Tag
IFN- α	
IFN α Reporter HEK-293 Cell Line	IFN α Reporter MDCK Cell Line
IFN α Reporter THP1 Cell Line	
BCMA:BAFFR:TACI	
H_BAFFR Jurkat Blockade Reporter Cell Line	H_BAFFR Reporter Cell Line
H_BCMA Reporter Cell Line	H_TACI Reporter Cell Line
Cynomolgus_BCMA CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_BCMA HEK-293 Cell Line
H_BCMA CHO-K1 Cell Line	H_BCMA HEK-293 Cell Line
Anti-BAFF hIgG1 Antibody(belimumab)	Anti-BAFFR hIgG1 Antibody(ianalumab)
Anti-BCMA hIgG1 Antibody(Belantamab)	Anti-BCMA hIgG1 Antibody(SEA-BCMA)
Anti-BCMA hIgG4 Antibody(BCMB69)	
Biotinylated Human BAFF Protein; His-Avi Tag	Biotinylated Human BCMA Protein; His-Avi Tag
Cynomolgus BAFF Protein; His Tag	Cynomolgus BCMA Protein; hFc Tag
Cynomolgus BCMA Protein; His Tag	Human APRIL Protein; hFc Tag
Human BAFF Protein; His Tag	Human BCMA Protein; hFc Tag
Human BCMA Protein; His Tag	Mouse BAFF Protein; His Tag
BDCA2(CLEC4C)	
H_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line	Cynomolgus_BDCA2 CHO-K1 Cell Line
Cynomolgus_BDCA2 Jurkat Cell Line	H_BDCA2 CHO-K1 Cell Line
H_BDCA2 HEK-293 Cell Line	H_BDCA2 Jurkat Cell Line
Anti-H_BDCA2 hIgG1 Antibody(Litifilimab)	
Cynomolgus BDCA2 Protein; His Tag	Human BDCA2 Protein; His Tag

使用许可协议:

凡购买及使用本细胞系产品，即表明使用者自愿接受并遵守以下相关使用政策:

- 本细胞系产品限于科研用途，不得被利用于任何商业用途。
- 本产品严禁用于人类或动物疾病诊治，也不得直接用于人体相关实验。
- 用户及为其利益服务的第三方承包商仅可在约定科研范围内使用本材料及其子代，不得进行修饰，亦不得向任何其他实体（包括关联机构）分发、销售、转让或以其他方式提供吉满生物材料。
- 如需将本产品用于本声明范围以外的用途，须事先获得吉满生物科技（上海）有限公司的书面许可，详情请联系吉满生物科技（上海）有限公司。