

## 产品手册

### H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line

### H\_BDCA2 Reporter 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：V2.8.240522

## 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、	材料准备.....	5
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	5
2.	试剂耗材准备.....	5
五、	细胞复苏、传代、冻存.....	6
1.	H_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 细胞复苏.....	6
2.	H_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 细胞传代.....	6
3.	H_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 细胞冻存.....	6
六、	使用方法.....	7
1.	激活验证实验.....	7
1)	加样步骤.....	7
2)	报告基因检测.....	8
3)	验证结果.....	8
	使用许可协议: .....	9
	附录一 H_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 流式表达结果.....	10
	附录二 H_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 传代稳定性.....	10

## 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-C13225	H_BDCA2 Reporter 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-C13225	H_BDCA2 Reporter 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 FcεRIγ 传播胞内信号,并诱导 B 细胞受体(BCR)样信号传导级联。

使用人源化的抗 BDCA2 单克隆抗体治疗是否能有效降低皮肤红斑狼疮患者的疾病活性还没有被广泛研究。

吉满生物 H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 报告基因细胞系,该细胞稳定表达 BDCA2 等基因。加入包被后的 BDCA2 的抗体后, BDCA2 与其抗体结合,导致脾酪氨酸激酶被募集到 FcεRIγ 的磷酸化免疫受体酪氨酸活化基序上,激活下游信号通路,从而激活荧光素酶 (Luciferase) 的表达。Luciferase 读值即代表信号通路的激活效果,因此可用于 BDCA2 相关抗体的体外效果评价。

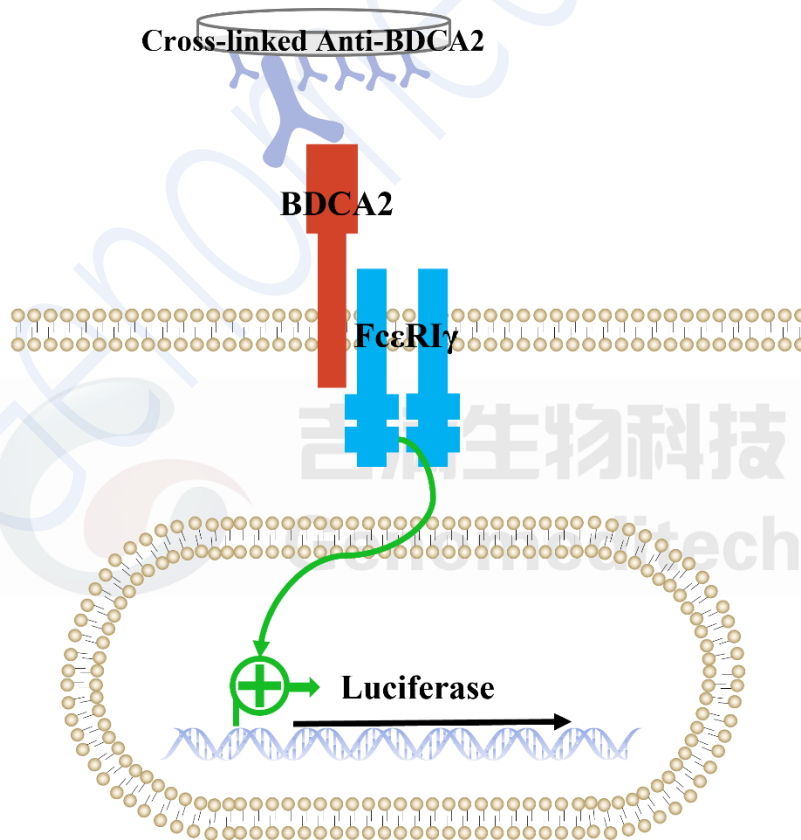


Fig 1.BDCA2 原理图

## 四、 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:	PMI 1640+10% FBS+1% P.S+0.75 µg/mL Puromycin+3.5 µg/mL Blasticidin+400 µg/mL G418
细胞冻存培养基:	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.
Blasticidin	10 mg	Genomeditech/GM-040404-1
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
G418	10 mg	Genomeditech/GM-040402-1
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Fetal Bovine Serum	500 mL	Cegrogen/A0500-3010
RPMI 1640	500 mL	Vivacell/C3010-0500
96 Well Clear V-Bottom Tissue Culture	96-well	Corning/3894
Clear Flat-Bottom Immuno Nonsterile 96-Well Plates	96-well	Thermo/442404
96 well White Flat Bottom Polystyrene Not Treated Microplate	96-well	Corning/3912
Anti-H_BDCA2 hIgG1 Antibody	/	Genomeditech/GM-31294AB
ONE-Glo™ Luciferase Assay System	50 mL	Promega/E6120

#### 重要仪器

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

## 五、 细胞复苏、传代、冻存

### 1. H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 细胞复苏

- a) 37°C水浴锅预热培养基，加入预热后的完全培养基 5 mL 至 15 mL 离心管。
- b) 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不断摇动至融化。
- c) 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，1000 rpm，离心 3 min，使细胞沉淀，弃上清。
- d) 使用 1 mL 完全培养基重悬。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。
- e) 通过补加培养基的形式调整活细胞密度为  $4 - 6 \times 10^5$  cells/mL，将细胞悬液接种至 1 - 2 个 T25 中（3 - 5 mL 悬液），竖瓶培养。

### 2. H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 细胞传代

- a) 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  $2 \times 10^6$  cells/mL，推荐使用 T25 瓶进行传代培养。
- b) 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新鲜培养液，然后将细胞吹打均匀后移入新的 T25 培养瓶中继续培养。
- c) 注意营养，不处理时务必隔天适当补加培养基。

### 3. H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 细胞冻存

- a) 使用 1000 rpm，3 min 离心收集细胞。
- b) 使用预冷细胞冻存液（90% FBS + 10% DMSO）重悬细胞，细胞密度调整为  $5 \times 10^6$  cells/mL，每管 1 mL 分装到细胞冻存管中。
- c) 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。

## 六、使用方法

### 1. 激活验证实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 细胞量为  $1 \times 10^5$  cells/孔。本次实验使用 Anti-H\_BDCA2 hIgG1 Antibody（以下简称为 Anti-BDCA2;150 kDa）作为阳性抗体，Conc.01 浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$ ，2 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。

孔板排布如下：

	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	Anti-BDCA2	100 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	12.5 $\mu\text{g/mL}$	6.25 $\mu\text{g/mL}$	3.13 $\mu\text{g/mL}$	1.56 $\mu\text{g/mL}$	781.25 ng/mL	390.63 ng/mL	0	PBS
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 1 h，将细胞从培养瓶中取出，离心收集细胞沉淀，使用 Assay Buffer 重悬，检测细胞活力并计数，再以 Assay Buffer 调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  cells/mL。
- 准备 1 个高吸附 96 孔板，使用紫外灭菌 15 min，备用。
- 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）。
- 母液配置

抗体名称	储液	母液	配置方法
Anti-BDCA2	1.88 mg/mL	/	直接使用储液

- 96 孔 V 底板中，加入包被液（15 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ，35 mM  $\text{NaHCO}_3$ ，pH 9.6），各孔体积见下表，如 B2 孔加入 208.3  $\mu\text{L}$  包被液，B3-B11 孔，加入 110  $\mu\text{L}$  包被液。
- 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 11.7  $\mu\text{L}$  Anti-BDCA2），混匀。

母液吸取	梯度稀释孔, 依次从前孔吸取 110 $\mu$ L, 加入次孔										对照孔	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	11.7 $\mu$ L Anti-BDCA2	208.3 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	110 $\mu$ L	
C												
D												
E												
F												
G												
H												

- h) 从第一个梯度稀释孔 B2 中吸取 110  $\mu$ L, 加入到第二个梯度稀释孔 B3, 充分混匀。
- i) 以此类推, 直至第 9 个梯度稀释孔 (B10)。
- j) 将梯度稀释液依次加入到步骤 b 紫外灭菌的高吸附 96 孔板中, 100  $\mu$ L 每孔, 于 4 $^{\circ}$ C 过夜后使用。
- k) 将步骤 j 包被过夜的孔板取出, Assay Buffer 润洗 2 遍后, 加入步骤 a 准备好的细胞悬液, 每孔 100  $\mu$ L。
- l) 盖上班盖, 于 37  $^{\circ}$ C CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h。
- m) 使用 ONE-Glo<sup>TM</sup> 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 Jurkat Cell Line	0 $\mu$ g/mL	100 $\mu$ g/mL	390.63 ng/mL
	69054	2278902	68227

## 3) 验证结果

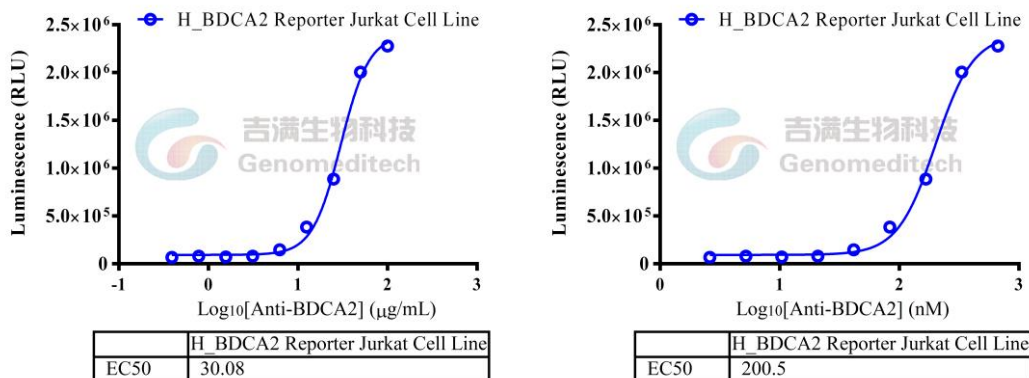


Fig 2. 功能验证结果

(右图对抗体进行质量浓度和摩尔浓度的换算后绘制)



## 使用许可协议:

吉满生物将其许可材料的所有知识产权，独占的、不可转让的和不可发放分许可的权利授予给被许可人；吉满生物将保留许可材料、细胞系历史包、子代、包括修改材料中许可材料的所有权。

在吉满生物和被许可方之间，被许可方不允许以任何方式修改细胞系。被许可方不得分享、分发、出售、再授权或以其他方式将被许可材料、子代提供给其它实验室、部门、研究机构、医院、大学或生物技术公司等第三方非基于外包被许可人的研究目的而使用。

详情请参考吉满细胞系授权协议。

Genomeditech

## 附录一 H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 流式表达结果

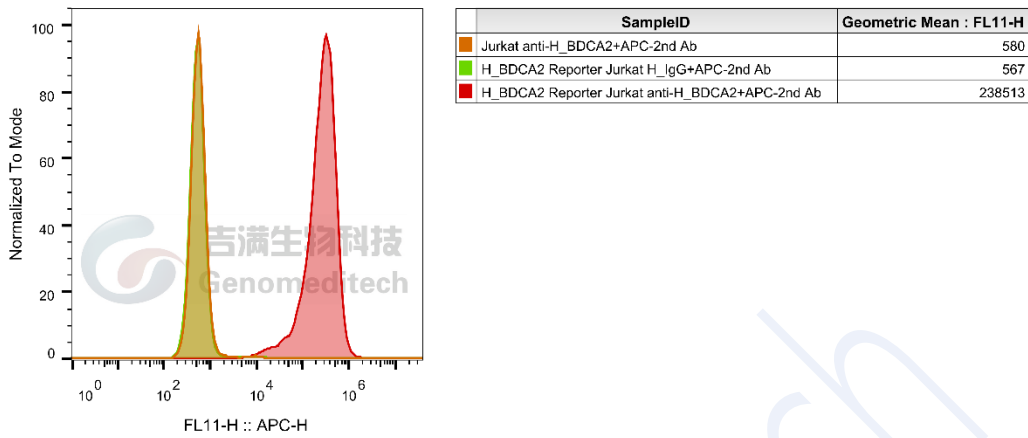


Fig 3.使用 Anti-H\_BDCA2 hIgG1 Antibody (Genomditech/GM-31294AB)抗体，流式验证结果

## 附录二 H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 传代稳定性

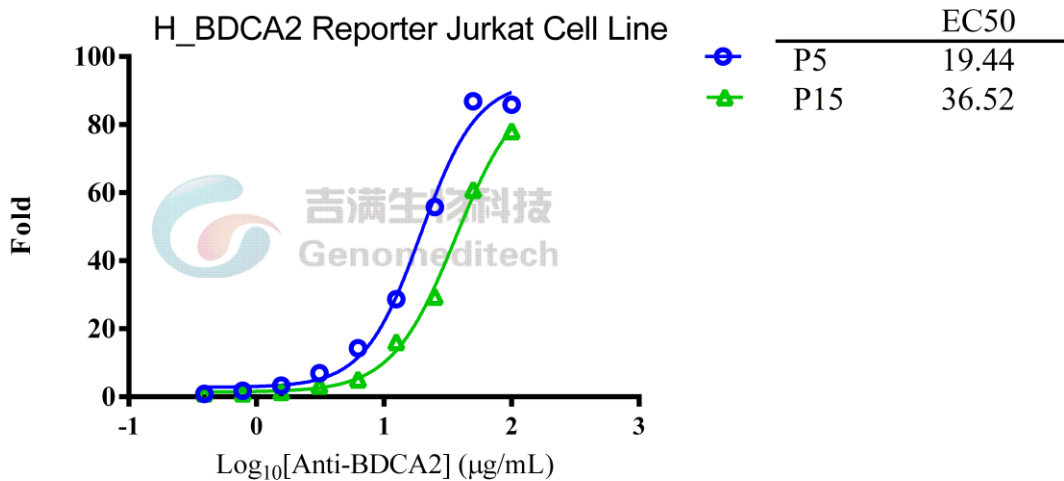


Fig 4. H\_BDCA2 Reporter Jurkat Cell Line 的 P5~P15 代的传代稳定性数据，纵坐标转换为倍率