

产品手册



ADCC FcγRIIIa(158V) NK-92 Cell Line

货号: GM-C44572

版本号: 4.0.26.929

规格参数

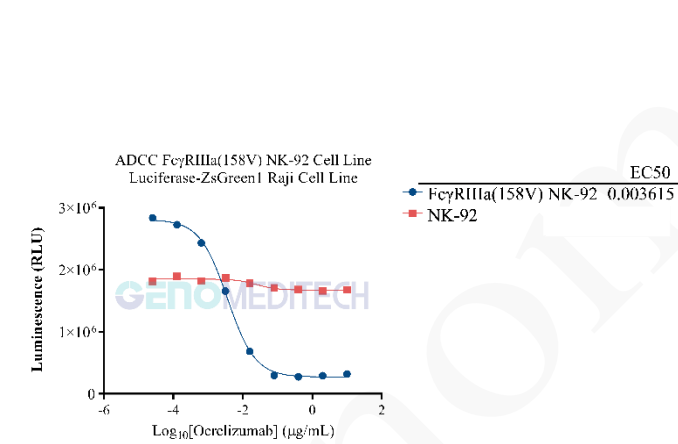
产品描述	ADCC Fc γ RIIIa(158V) NK-92 Cell Line 采用电转技术构建，为单克隆稳定细胞株，组成型表达人 Fc γ RIIIa(158V)基因。
数量	2E6 Cells per vial, 1 mL
产品形式	1 支冻存细胞
储运条件	干冰运输，-196° C 以下长期储存
靶点	Human FcγRIIIa(158V)
转录本	P08637 (p.F176V)
宿主细胞	NK-92
复苏培养基	NK-92 cell-specific medium supplemented with 100 U/mL IL-2
生长培养基	NK-92 cell-specific medium supplemented with 100 U/mL IL-2
培养备注	细胞应使用 Procell-CM-0530 NK-92 细胞培养基培养。
细胞冻存液	90% FBS+10% DMSO
生长特性	悬浮
培养条件	37°C, 5% CO ₂
支原体检测	该细胞系已通过支原体检测，结果为阴性。
生物安全等级	Biosafety Level 2
备注	建议尽早扩增该细胞，并冻存至少 10 支，以便后续使用。

实验材料与仪器

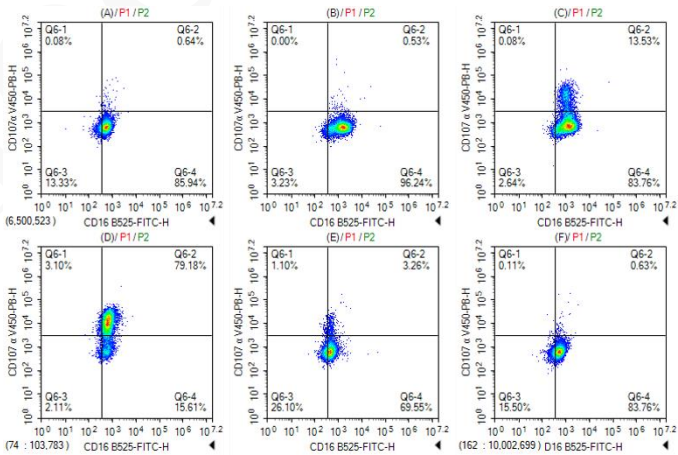
名称	Manufacturer/Catalogue No.
Specialized Culture Medium for NK-92 Cells	Procell/CM-0530
PE anti-human CD16 Antibody	BioLegend/302007
Anti-H_MS4A1(CD20) hIgG1 Antibody(Ocrelizumab)	Genomeditech/ GM-27200AB
FITC anti-human CD16 Antibody	Biolegend/302005
APC anti-human CD56 (NCAM) Antibody	Biolegend/318309
Brilliant Violet 421™ anti-human CD107a (LAMP-1) Antibody	Biolegend/328625
Raji Cell Line	Genomeditech/GM-C19100
CytoTox 96®Non-Radioactive Cytotoxicity Assay	Promega/G1780
Countess 3 Automated Cell Counter	ThermoFisher/A49891
NovoCyte Flow Cytometer	Agilent/NovoCyte 2060R
SpectraMax® L Microplate Luminometer	Moleculardevices/SpectraMax L

验证结果

应用

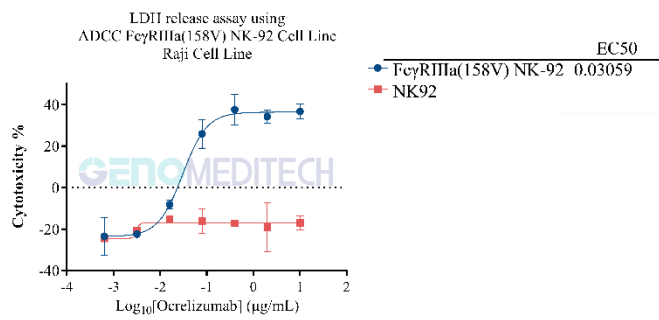


Ocrelizumab 在 NK-92 细胞上的 ADCC 实验。将 ADCC FcγRIIIa(158V)NK-92 细胞系 (GM-C44572) 以 1×10⁵ 细胞/孔的密度, 与 Luciferase-ZsGreen1 Raji 细胞系 (GM-C25554) 以 2×10⁴ 细胞/孔的密度共培养, 加入梯度稀释的 Anti-H_MS4A1(CD20) hIgG1 Antibody(Ocrelizumab) ([GM-27200AB](#)), 在 assay buffer (NK-92 细胞专用培养基, 不含 IL-2) 中孵育 6 小时 (96 孔板)。随后使用萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒 (Genomeditech) 测定发光值。



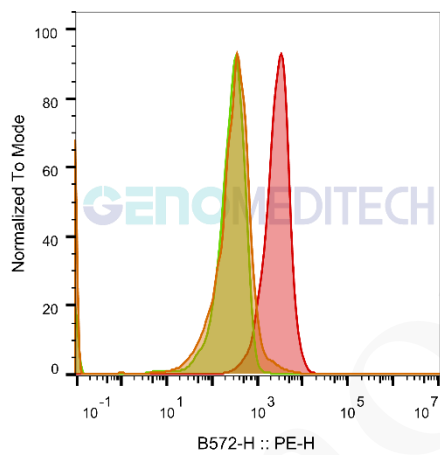
CD107a 脱颗粒流式细胞术验证。将 ADCC FcγRIIIa(158V)NK-92 细胞系 (GM-C44572) 用 Anti-H_MS4A1(CD20) hIgG1 Antibody(Ocrelizumab) ([GM-27200AB](#)) 或 PMA/离子霉素 (PMA/Iono) 处理, 以 FITC anti-human CD16 Antibody (BioLegend/302005) 和 Brilliant Violet 421™ anti-human CD107a (LAMP-1) Antibody (Biolegend/328625) 标记后, 进行流式细胞术检测。分组如下: (A) C44572 未染色/未刺激; (B) C44572 + Raji; (C) C44572 + Raji + Ocrelizumab; (D) C44572 + PMA/离子霉素; (E) NK-92 + Raji + Ocrelizumab; (F) C44572 + Raji + IgG 同型对照。结果显示, FcγRIIIa (158V) NK-92 细胞表现出显著的抗体介导脱颗粒反应, 证实该高亲和力变体能够有效触发 ADCC。

检测性能



ADCC 活性的测定。以靶细胞最大 LDH 释放量的百分比评价 Raji 与 NK-92 来源细胞系介导的抗体依赖细胞介导的细胞毒作用（ADCC）。将 ADCC FcγRIIIa(158V) NK-92 细胞系（GM-C44572）以 1×10⁵ 细胞/孔的密度与 Raji 细胞系（GM-C19100）以 2×10⁴ 细胞/孔的密度共培养于 96 孔 U 型底培养板，加入梯度稀释的 Anti-H_MS4A1(CD20) hIgG1 Antibody(Ocrelizumab)（GM-27200AB）（assay buffer 为 RPMI 1640 + 1% FBS + 1% P.S）。孵育 2 小时后，使用 CytoTox 96® 非放射性细胞毒性检测试剂盒（Promega/G1780）检测 LDH 释放量。

表达



	SampleID	Geometric Mean : B572-H
	NK-92 PE-anti-CD16 Ab	177
	NK-92 H_FcGR3A(CD16A) PE-M_IgG Ab	207
	NK-92 H_FcGR3A(CD16A) 158V PE-anti-CD16 Ab	2701

CD16 流式表达验证。采用流式细胞术，用 PE anti-human CD16 Antibody (Biolegend/302007) 检测 ADCC Fc γ RIIIa(158V) NK-92 细胞系（GM-C44572）的 CD16 表达。

细胞复苏

复苏培养基: NK-92 cell-specific medium supplemented with 100 U/mL IL-2

为确保最高存活率,应在收到冻存细胞后立即解冻并复苏培养。如果在收到细胞后需要继续储存,将其置于液氮罐中,严禁储存在-70° C,因为在-70° C下储存会导致活性丧失。

- 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 $\geq 1.5 \times 10^6$ 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 个 T25 中 (3-5 mL 悬液), 竖瓶培养。

细胞冻存

细胞冻存液: 90% FBS+10% DMSO

- 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 2×10^6 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。

细胞传代

生长培养基: NK-92 cell-specific medium supplemented with 100 U/mL IL-2

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,悬浮生长且聚团。
- 细胞较难复苏,复苏初期细胞生长缓慢(一周左右),会有部分细胞破碎,出现大量死细胞和死细胞碎片,培养两周后有所好转。建议每 1-2 周 $176 \times g$, 离心 5 min, 弃上清,去除部分细胞碎片和颗粒,更换新鲜复苏培养基。首次复苏,若 48 h 不传代,适当补加复苏培养基。
- 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。
- 细胞除首次传代需离心收集细胞,后续细胞换液或传代时建议使用[半换液法],即细胞自然沉降,弃去一半旧培养液,直接向培养瓶中添加等体积的新鲜培养液,然后将细胞吹打均匀或移入两个新的 T25 培养瓶中 (1:2 传代), 补充新的完全培养基至 8-10 mL/瓶。

培养备注

- 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。
- 细胞生长依赖于 IL-2,若培养液中缺少 IL-2,很容易死亡。IL-2 在-5 - -20°C 下稳定,避免反复冻融; IL-2 易降解,配好的完全培养基,应在一周内用完。
- 细胞生长状态呈现细胞聚团生长。细胞在培养过增殖细胞碎片多、颗粒多是正常现象。当细胞密度较大或者培养液变黄时,需要及时半换液或者完全换液。在换液过程中尽量冲散细胞。

序列

FcγRIIIa(158V) [P08637\(p.F176V\)](#)
MWQLLLPTALLLLVSAGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSY
FIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVITYLQNGKGR
KYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLVGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQVSFCLVMVLLFAVDTGL
YFSVKTNIRSSTRDWKDHKFKWRKDPQDK

相关产品

FcγR	
H_CD32B aAPC CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_FcRn MDCK Cell Line
H_FCGR1A(CD64) CHO-K1 Cell Line	H_FCGR1A(CD64) HEK-293 Cell Line
H_FCGR2A(CD32A) CHO-K1 Cell Line	H_FCGR2B(CD32B) CHO-K1 Cell Line
H_FCGR3A(CD16a) 158F CHO-K1 Cell Line	H_FCGR3A(CD16a) 158V CHO-K1 Cell Line
H_FCGR3B(CD16b) CHO-K1 Cell Line	H_FcRn CHO-K1 Cell Line
H_FcRn MDCK Cell Line	H_FcRn-GFP HEK-293 Cell Line
Mouse_FcγRIV FcγRIIb aAPC CHO-K1 Cell Line	Mouse_FcγRIV FcγRIIb CHO-K1 Cell Line
Mouse_FcRn MDCK Cell Line	
Anti-FcRn hIgG4 Reference Antibody(Rozabio)	Anti-H_FcRn IgG4 Antibody(Rozanolixizumab)
Anti-Mouse CD16/32 mIgG2b Antibody(2.4G2)	
Human IgG1 Fc Protein; His Tag	
ADCCP	
ADCC FcγRIIIa(158F) Jurkat Effector Cell Line	ADCC FcγRIIIa(158V) DDX35TM Jurkat Effector Cell Line
ADCC FcγRIIIa(158V) Jurkat Effector Cell Line	ADCC FcγRIIIa(158V) Reporter Jurkat(CD3 KO) Cell Line
ADCC FcγRIIIa(158V) Reporter Jurkat(CD3 KO) Cell Line	ADCC FcγRIIIa(158V) Reporter NK-92 Cell Line
ADCC M_FcγRIV Jurkat Effector Cell Line	ADCP FcγRI Jurkat Effector Cell Line
ADCP FcγRIIa DDX35TM Jurkat Effector Cell Line	ADCP FcγRIIa Jurkat Effector Cell Line
ADCP FcγRIIa R131 Jurkat Effector Cell Line	ADCP FcγRIIb Jurkat Effector Cell Line

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。