

产品手册

Mouse_FcgRIV FcgRIIb aAPC CHO-K1 Cell Line

Mouse_FcgRIV FcgRIIb aAPC CHO-K1 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、	材料准备	3
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备	3
2.	试剂耗材准备	3
四、	细胞复苏、传代、冻存	5
1.	细胞复苏	5
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）	5
3.	细胞冻存	5
五、	验证结果	6
1.	流式检测蛋白表达	6
附录 1	功能验证结果	7
附录 2	氨基酸序列	8
使用许可协议：		9

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-C40207	Mouse_FcgRIIV FcgRIIb aAPC CHO-K1 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C40207	Mouse_FcgRIIV FcgRIIb aAPC CHO-K1 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. 本产品相关实验，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、材料准备

1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基:	F12K+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	F12K+10% FBS+1% P.S+4 µg/mL Blasticidin+100 µg/mL Hygromycin+4 µg/mL Puromycin
细胞冻存液:	90% FBS+10% DMSO

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
Blasticidin	10mg	Genomeditech/GM-040404-1
Hygromycin	1 g	Genomeditech/GM-040403-1
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
F12K	500 mL	BOSTER/PYG0036
APC anti-mouse CD16.2 (FcγRIIV) Antibody	/	Biolegend/149505
FITC anti-mouse CD32 (Fcγr2) Antibody	/	Biolegend/156407
Anti-PD1 mIgG1 Antibody(Rosnilimab)	/	Genomeditech/GM-87955AB
Anti-PD1 mIgG2a Antibody(Rosnilimab)	/	Genomeditech/GM-87956AB

Anti-PD1 mIgG2b Antibody(Rosnilimab)	/	Genomeditech/GM-87957AB
H_PD-1 Reporter Jurkat Cell Line	1 管(5E6 Cells/mL)	GM-C07928
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	
流式细胞仪	贝克曼库尔特国际贸易（上海）有限公司/CytoFLEX	

四、 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 × g，离心 3 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，活细胞 $\geq 3 \times 10^6$ cells/mL。
- 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 $2-3 \times 10^5$ cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。

3. 细胞冻存

- 使用 176 × 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（以 10 cm 皿为例）

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。

- 此细胞呈梭状，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况。当细胞密度大于 60%，即可进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:4-1:5，2-3 天传代。
- 将皿或培养瓶中的培养液弃去，10 cm 皿加 2 mL PBS 润洗 1 次。
- 弃 PBS，加 1 mL 0.25% Trypsin-EDTA 消化液，37°C 消化 2-3 min，显微镜下观察。
- 待细胞变圆，细胞间隙明显，部分细胞刚开始脱离瓶壁时，加 2 mL 左右生长培养基混匀终止消化，将细胞小心吹打下来，176 × g 室温离心 3 min。
- 弃上清，细胞沉淀用生长培养基重悬，根据传代前细胞密度分盘（根据培养皿面积和细胞密度计算，传代后细胞密度为 20-30%）。

注意事项：

- 细胞状态稳定后，传代后死细胞会变少，细胞生长速度趋于稳定，细胞形态均匀，胞体健壮。
- 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。

五、 验证结果

1. 流式检测蛋白表达

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐Mouse_FcγRIV FcγRIIb aAPC CHO-K1 Cell Line细胞量为 2×10^5 cells/管。操作步骤如下：

- 实验前，需等待细胞生长速率稳定，约需要3-5 d。
- 实验当天，消化Mouse_FcγRIV FcγRIIb aAPC CHO-K1 Cell Line，取100 μL细胞悬液（细胞计数后用PBS调整浓度为 2×10^6 cells/mL），分别加入适量的表面抗体（APC anti-mouse CD16.2 (FcγRIV) Antibody、FITC anti-mouse CD32 (FcγR2) Antibody），4℃避光孵育30 min。
- 加入1-2 mL PBS冲洗，400 g离心5 min，去除上清，此步骤重复2次。
- 立即上机检测。
- 验证结果。

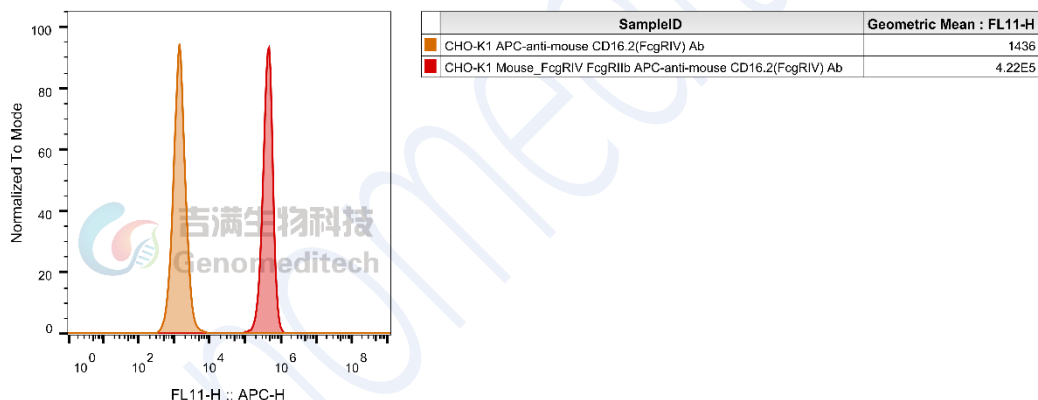


Fig 1.使用 APC anti-mouse CD16.2 (FcγRIV) Antibody (Biolegend/149505) 抗体流式验证结果

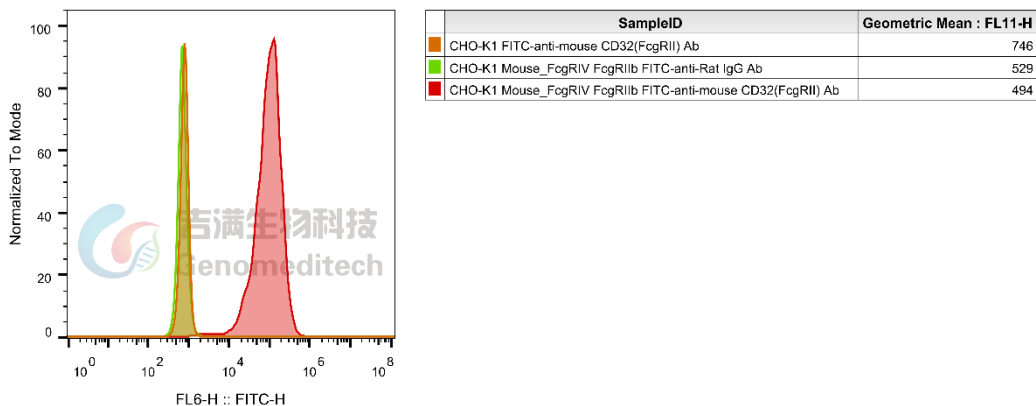


Fig 2.使用 FITC anti-mouse CD32 (Fcγr2) Antibody (Biolegend/156407) 抗体流式验证结果

附录 1 功能验证结果

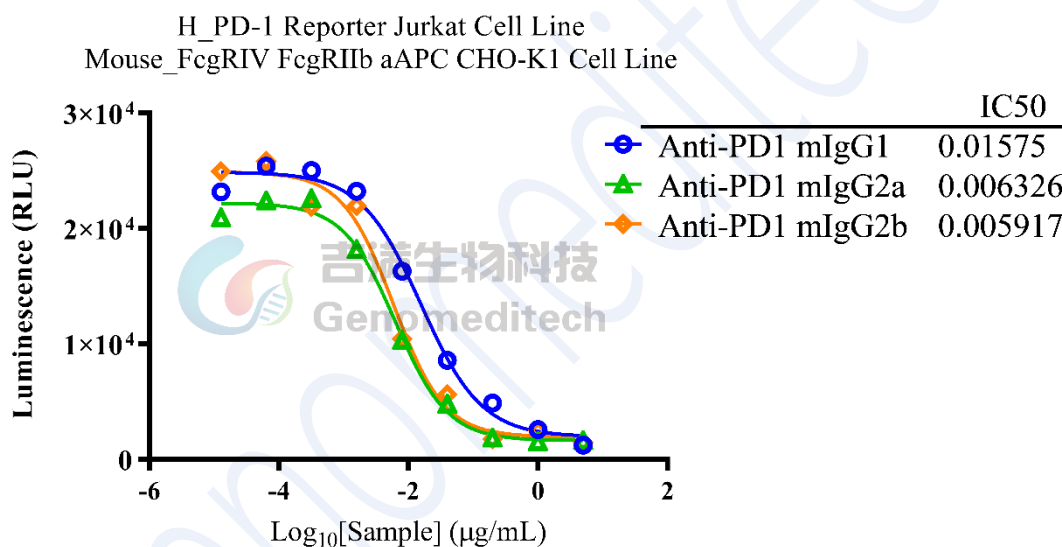


Fig 3. 分别制备 Rosnilimab 抗体梯度稀释液；提前 16-24 h 配制 Mouse_FcγRIV FcγRIIb aAPC CHO-K1 细胞，每孔细胞量 1×10^4 个。提前 1-2 h 配置 H_PD-1 Reporter Jurkat 细胞，每孔细胞量 1×10^5 个。将过夜培养的 Mouse_FcγRIV FcγRIIb aAPC CHO-K1 吸弃上清，先加入 H_PD-1 Reporter Jurkat，每孔 50 μ L，然后再加入稀释好的 Rosnilimab 溶液，每孔 50 μ L。孵育 6 h 后检测。

附录 2 氨基酸序列

Mouse_FcgRIV (A0A0B4J1G0) :

MWQLLLPTALVLTAFSGIQAGLQKAVVNLDPKWVRVLEEDSVTLRCQGTFSPEDNSIKW
FHNESLIPHQDANYVIQSARVKDSGMYRCQTALSTISDPVQLEVHMGWLLLQTTKWLFQ
EGDPIHLRCHSWQNRPV RKV TYLQNGKGKKYFHENSELLIPKATHNDSGSYFCRGLIGHN
NKSSASFRISLGDPGSPSMFPPWHQITFCLLIGLLFAIDTVLYFSVRRGLQSPVADYEETPKIQ
WSKEPQDK

Mouse_Fcgr2b (P08101-1) :

MESNWTVHVFSRTLCHMLLWTAVLNLAAGTHDLPKAVVKLEPPWIQVLKEDTVTLTCE
GTHNPGNSSTQWFHNGRSIRSQVQASYTFKATVNDSGEYRCQMEQTRLSDPVDLGVISD
WLLLQTPQLVFLEGETITLRCHSWRNKLLNRISFFHNEKSVRYHHYSSNFSIPKANHSHSG
DYYCKGSLGRTLHQSKPVTITVQGPSSRSLPVL TIVA AVTGI AVAAI VILVSLVYLKKKQ
VPALPGNPDHREMGETLPEEVGEYRQPSGGSVPVSPGPPSGLEPTSSSPYNPPDLEEAAT
EAENTITYSLLKHPEALDEETEHDYQNHI

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。