

产品手册

Membrane Bound H₂APRIL(Trimer) HEK-293 Cell Line

Membrane Bound H₂APRIL(Trimer) HEK-293 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.....	4
1.	细胞复苏.....	4
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）.....	4
3.	细胞冻存.....	4
五、	验证结果.....	5
1.	流式检测蛋白表达.....	5
附录 1	共培养激活结果.....	6
附录 2	共培养激活后，抗体 block.....	6
附录 3	Human_APRIL 氨基酸序列（Uniprot: O75888-1(AA His 115 - Leu 250)）.....	7
相关产品：	7
使用许可协议：	8

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-C40503	Membrane Bound H ₂ APRIL(Trimer) HEK-293 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C40503	Membrane Bound H ₂ APRIL(Trimer) HEK-293 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:	DMEM+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	DMEM+10% FBS+1% P.S+0.75 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.
DMEM	500 mL	Gibco/C11995500BT
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
H ₂ TACI Reporter Cell Line	1 管 (5E6 Cells/mL)	Genomeditech/GM-C35041
Anti-APRIL hIgG2 Reference Antibody (Sibebio)	/	Genomeditech/GM-88014MAB

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
流式细胞仪	安捷伦科技(中国)有限公司/2060R

四、细胞复苏、传代、冻存

1. 细胞复苏

注：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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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，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 \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（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。

- 细胞为上皮细胞，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况，当细胞密度达到 80%，需要进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:3-1:4，2-3 天传代。注意保持密度不超过 80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。
- 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 $^{\circ}\text{C}$ 消化 30-60 s，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 \times 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 30-40%）。

注意事项：

- 细胞刚复苏，会有一些比例的死细胞，属于正常现象，经调整会有明显好转，状态稳定后，传代后死细胞会变少，细胞生长速度趋于稳定。
- 注意保持密度不超过 80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。
- FBS 需 56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 分钟，可热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Membrane Bound H_APRIL(Trimer)

HEK-293 Cell Line细胞量为 2×10^5 cells/管。操作步骤如下：

- a) 实验前，需等待细胞生长速率稳定，约需要3-5 d。
- b) 实验当天，消化 Membrane Bound H_APRIL(Trimer) HEK-293 cell line，取100 μ L 细胞悬液（细胞计数后用1% BSA/PBS调整浓度为 2×10^6 cells/mL），加入适量的表面抗体（Anti-APRIL hIgG2 Reference Antibody (Sibebio)），4°C避光孵育30 min。
- c) 加入1-2 mL 1% BSA/PBS冲洗，400 g 离心5 min，弃上清。重复此步骤2次。
- d) 加入荧光标记的二抗，4°C避光孵育30 min。
- e) 离心弃上清，细胞用1% BSA/PBS重悬（注意避光保存）。
- f) 立即上机检测。
- g) 验证结果。

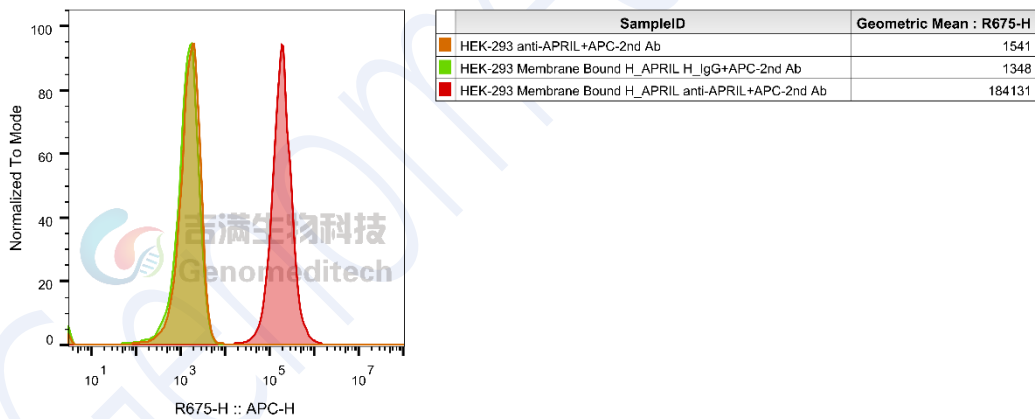


Fig 1. Membrane Bound H_APRIL(Trimer) HEK-293 Cell Line (Cat. GM-C40503) was determined by flow cytometry using Anti-APRIL hIgG2 Reference Antibody (Sibebio)(Cat. GM-88014MAB).

附录 1 共培养激活结果

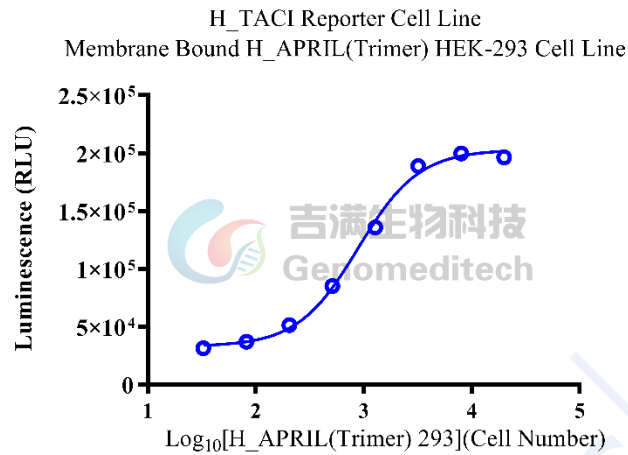


Fig 2. Response to Membrane Bound H_APRIL(Trimer) HEK-293 Cell Line. H_TACI Reporter Cell Line (Cat. GM-C35041) at a concentration of 1E5 cells/well (96-well format) was stimulated with serial dilutions of Membrane Bound H_APRIL(Trimer) HEK-293 Cell Line (Cat. GM-C40503) for 6 hours. The firefly luciferase activity was measured using the Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech).

附录 2 共培养激活后，抗体 block

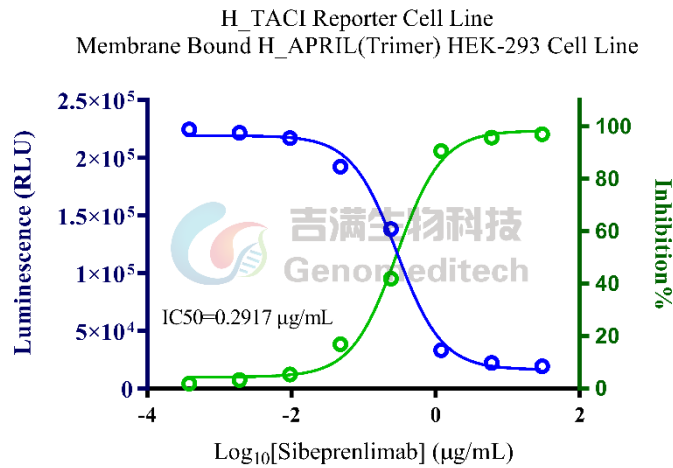


Fig 3. Inhibition of Membrane Bound H_APRIL-induced reporter activity by Sibeprenlimab. Serial dilutions of the Anti-APRIL hIgG2 Reference Antibody (Sibebio)(Cat. GM-88014MAB) were incubated with 1.5E4 cells/well of the Membrane Bound H_APRIL(Trimer) HEK-293 Cell Line (Cat. GM-C40503) in a 96-well plate for 1 hour in assay buffer (RPMI 1640+1% FBS+1% P.S). Subsequently, the H_TACI Reporter Cell Line (Cat. GM-C35041) at a concentration of 1E5 cells/well was added, and the co-culture proceeded for an additional 6 hours. Firefly luciferase activity was then measured using the Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech) (left Y-axis, relative luminescence units), with inhibition percentages shown on the right Y-axis. Data are shown by drug mass concentration.

附录 3 Human_APRIL 氨基酸序列 (Uniprot: O75888-

1(AA His 115 - Leu 250))

HSVLHLVPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGRGLQAQGYGVRIQDAGVYLLYSQVLFQ
 DVTFTMGQVVSREGQGRQETLFR CIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFHLHQGDILSVIIPRAR
 AKLNLSPHGTFLGFVKL-HSVLHLVPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGRGLQAQGYGV
 RIQDAGVYLLYSQVLFQDVTFTMGQVVSREGQGRQETLFR CIRSMPSHPDRAYNSCYS
 AGVFHLHQGDILSVIIPRARAKLNLSPHGTFLGFVKL-HSVLHLVPINATSKDDSDVTEVMW
 QPALRRGRGLQAQGYGVRIQDAGVYLLYSQVLFQDVTFTMGQVVSREGQGRQETLFR CI
 RSMPSHPDRAYNSCYSAGVFHLHQGDILSVIIPRARAKLNLSPHGTFLGFVKL

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
Mouse_CD40L CHO-K1 Cell Line	Rabbit_CD40L NIH-3T3 Cell Line
Anti-CD40 hIgG1 Reference Antibody (Sotibio)	Anti-CD40 hIgG1 Reference Antibody (Tenebio)
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	
IFNα Reporter HEK-293 Cell Line	IFNα Reporter MDCK Cell Line
IFNα 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)	Anti-CD3E\timesBCMA hIgG4 Reference Antibody (Tebio)

Anti-TNFSF13B(BAFF) hIgG1 Reference Antibody (Belbio)	
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 DDX35TM Jurkat Cell Line	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
CD3	
ADCC FcγRIIIa(158V) Reporter Jurkat(CD3 KO) Cell Line	Jurkat CD3-BsAb Reporter Cell Line
Cynomolgus_CD3 HEK-293 Cell Line	Cynomolgus_CD3E(Membrane Bound ECD) CHO-K1 Cell Line
H_CD3 CHO-K1 Cell Line	H_CD3 HEK-293 Cell Line
H_CD3(TCR V2) CHO-K1 Cell Line	H_CD3(TCR V2) HEK-293 Cell Line
H_CD3D CD3E KO Jurkat Cell Line	H_CD3E KO Jurkat Cell Line
H_CD3E(Membrane Bound ECD) CHO-K1 Cell Line	Mouse_CD3 HEK-293 Cell Line
Anti-CD3 hIgG1 Antibody(CH2527)	Anti-CD3 epsilon hIgG1 Antibody [OKT-3 (muromonab)]
Anti-mouse CD3ε mIgG2a Antibody(145-2C11)	Anti-CD3×CD20 hIgG1 Bispecific Antibody (Epcobio)
	Anti-CD3E×BCMA hIgG4 Reference Antibody (Tecbio)

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。