

产品手册

H_PD-L1 Raji Cell Line

H_PD-L1 Raji 细胞系

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V2.12.2

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	H_PD-L1 氨基酸序列（Q9NZQ7-1）	6
附录 2	功能验证	6
相关产品	8
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-C03541	H_PD-L1 Raji Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C03541	H_PD-L1 Raji 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:	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S+3 µg/mL Blastocidin
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	25 mg	Genomeditech/GM-040404-1
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
RPMI 1640	500 mL	Gibco/C11875500BT
H_PD-1 Reporter Jurkat Cell Line	1 tube	Genomeditech/GM-C07928
Anti-H_CD274(PDL1) hIgG1 Antibody(Atezolizumab)	/	Genomeditech/GM-31740AB
Anti-PD1 hIgG4 Antibody(Pembrolizumab)	/	Genomeditech/GM-52674AB

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 $2.5-4 \times 10^5$ cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养瓶中，刚复苏时，瓶体竖向放置。

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，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。

- 细胞为淋巴母细胞样细胞。
- 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 $1-1.2 \times 10^6$ cells/mL，1 传 3-1 传 4，2-3 天继续传代，不要让其密度超过 1.5×10^6 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：

- 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H_PD-L1 Raji 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H_PD-L1 Raji 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-H_CD274(PDL1) hIgG1 Antibody(Atezolizumab)），4°C避光孵育30 min。
- 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。
- 加入荧光标记的二抗，4°C避光孵育30 min。
- 离心弃上清，细胞用1% BSA/PBS重悬（注意避光保存）
- 立即上机检测。
- 验证结果。

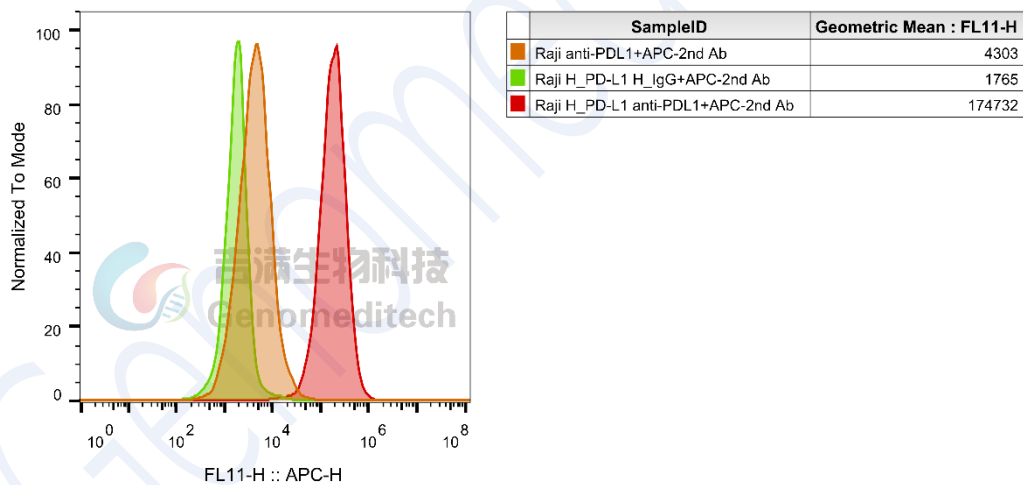


Fig 1. H_PD-L1 Raji Cell Line (Cat. GM-C03541) was determined by flow cytometry using Anti-H_CD274(PDL1) hIgG1 Antibody(Atezolizumab) (Cat. GM-31740AB).

附录 1 H_PD-L1 氨基酸序列 (Q9NZQ7-1)

MRIFAVFIFMTYWHLNNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEM
 EDKNIIQFVHGEECLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISY
 GGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGK
 TTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPNERTHL
 VILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET

附录 2 功能验证

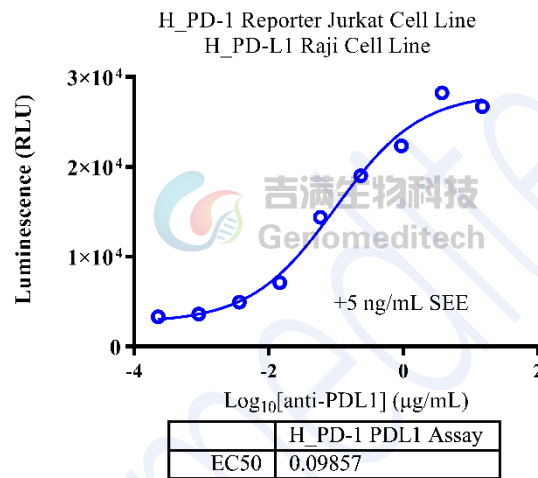


Fig 3. Response to Anti-H_CD274(PDL1) hIgG1 Antibody (Atezolizumab). The Atezolizumab (Cat. GM-31740AB) was serially diluted and incubated with 2E4 cells/well of the H_PD-L1 Raji Cell Line in a 96-well plate for 30 minutes. Meanwhile, 1E5 cells/well of the H_PD-1 Reporter Jurkat Cell Line (Cat. GM-C07928) was pre-incubated with 0.5 ng/well of SEE in a 96-well plate for 30 minutes. Afterward, the two treated cell mixtures were combined in equal volumes and co-incubated in assay buffer (RPMI 1640 + 1% FBS + 1% P.S.) for 16 hours. The firefly luciferase activity was measured using the Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech). The results indicated a maximum fold of approximately [8.3]. Data are presented based on drug mass concentration.

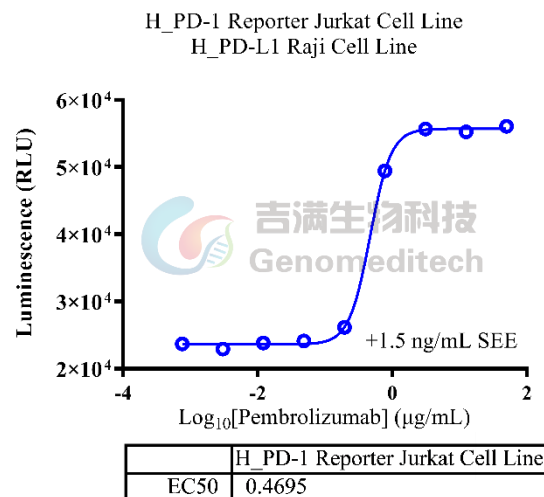


Fig 4. Response to Anti-PD-1 Human IgG4 Antibody (Pembrolizumab). Having been pre-incubated with 0.15 ng/well of SEE for 30 minutes, 2E4 cells/well of the H_PD-L1 Raji Cell Line (Cat. GM-C03541) were subsequently incubated with serially diluted pembrolizumab for 5 minutes. Upon completion, 1E5 cells/well of the H_PD-1 Reporter Jurkat Cell Line (Cat. GM-C07928) were introduced into the assay buffer, and the reaction was allowed to proceed for 16 hours. The firefly luciferase activity was measured using the Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech). The results indicated a maximum fold of approximately [2.3]. Data are presented based on drug mass concentration.

Genomeditech

相关产品

PD-1:PD-L1(B7-H1):PDL2	
Mouse_PDL1 KO LLC1 Cell Line	Mouse_PDL1 KO MC38 Cell Line
aAPC(OKT3) PDL1 CHO-K1 Cell Line	H_PD-1 Reporter Jurkat Cell Line
H_PDCD1LG2(PDL2) aAPC CHO-K1 Cell Line	Mouse PDL1 aAPC CHO-K1 Cell Line
Mouse_PD-1 Reporter Jurkat Cell Line	Canine_PD-1 CHO-K1 Cell Line
Canine_PD-1 HEK-293 Cell Line	Cynomolgus_PD1 CHO-K1 Cell Line
H_CD274(PD-L1) CHO-K1 Cell Line	H_CD274(PD-L1) MC38 Cell Line
H_PDCD1(PD-1) CHO-K1 Cell Line	H_PDCD1(PD-1) HEK-293 Cell Line
H_PDCD1LG2(PDL2) CHO-K1 Cell Line	H_PD-L1 HEK-293 Cell Line
H_PDL1 LLC1(mouse_PDL1 KO) Cell Line	H_PDL1 LLC1(mouse_PDL1 KO) Cell Line
H_PDL1 MC38(mouse_PDL1 KO) Cell Line	M_PDCD1(PD-1) CHO-K1 Cell Line
Anti-Canine_PD1 mIgG2a Antibody(4F12-E6)	Anti-H_CD274(PDL1) Antibody(Atezolizumab) hIgG1
Anti-H_PDCD1(PD1) hIgG1 Antibody(Budigalimab)	Anti-H_PDCD1LG2 mIgG1 Antibody(3G2)
Anti-H_PDL1 hIgG1 Reference Antibody(Atezbio)	Anti-mouse PD1 RIgG2a Antibody(RMP1-14)
Anti-mouse PD-L1 mIgG1 Antibody(10F.9G2)	Anti-Mouse_PD1 mIgG1 Antibody(29F.1A12)
Anti-mouse_PD1 mIgG1 Antibody(RMP1-14)	Anti-PD1 hIgG1 Reference Antibody(Rosnbio)
Anti-PD1 hIgG4 Antibody(Pembrolizumab)	Anti-PD1 hIgG4 Reference Antibody (Nivbio)
Anti-PD1 hIgG4 Reference Antibody (Pembio)	Anti-PD1 hIgG4 Reference Antibody (Sintbio)
Anti-PD-1 hIgG4 Reference Antibody (Torbio)	Anti-PD1 hIgG4 Reference Antibody(Cambio)
Anti-PD-1 hIgG4 Reference Antibody(Tislbio)	Anti-PD-L1 hIgG1 Reference Antibody(Avebio)
Anti-PDL1 hIgG4 Reference Antibody(Adebio)	Anti-PD-L2 hIgG1 Antibody(Hz25G4-1.1)
Biotinylated Human PD1 Protein; His-Avi Tag	Biotinylated Human PDL1 Protein; His-Avi Tag
Canine PD1 Protein; hFc Tag	Cynomolgus PDL1 Protein; His Tag
Human PD1 Protein; His Tag	Human PDL1 Protein; His Tag
Mouse PDL1 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。