Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

产品手册

H_IL-23 Reporter 293 Cell Line

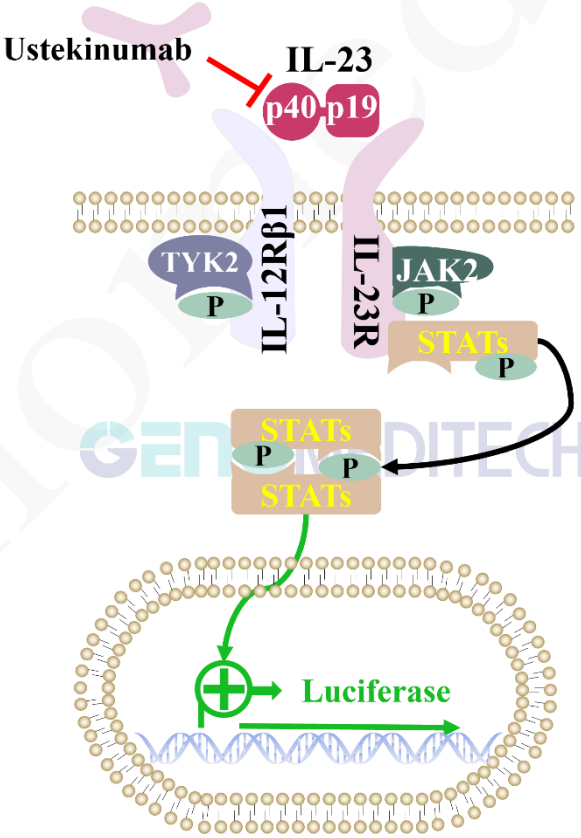
货号: GM-C06722

版本号：4.0.26.1030

白细胞介素 23（IL-23）是一种炎症性细胞因子，是 IL-12 细胞因子家族的一部分。IL-23 由 IL-12B（IL-12p40）亚基和 IL-23A（IL-23p19）亚基组成。主要由活化的树突状细胞，巨噬细胞或单核细胞分泌。IL-23 是辅助 T 细胞 17 型（Th17 细胞）维持和扩增的关键细胞因子，使 Th17 细胞能够释放其效应细胞因子从而介导自身免疫反应。

IL-23 的功能受体（IL-23 受体）由 IL-12Rβ1 和 IL-23R 之间的异源二聚体组成。IL-23 与结肠炎、胃炎、牛皮癣和关节炎等自身免疫性炎症性疾病有关。Ustekinumab 是一种针对这种细胞因子的单克隆抗体，作用于 P40 亚基，用于治疗某些自身免疫性疾病。

吉满生物 H_IL-23 Reporter 293 Cell Line 细胞系是以 HEK-293 为工具细胞，基于 JAK-STAT 信号通路构建的一种 Luciferase 报告基因细胞系。当 IL-23 结合 IL-23R、IL12Rβ1 受体后，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 IL-23 相关药物的体外效果评价。



本公司产品仅供科研用途，严禁用于人体治疗！

规格参数

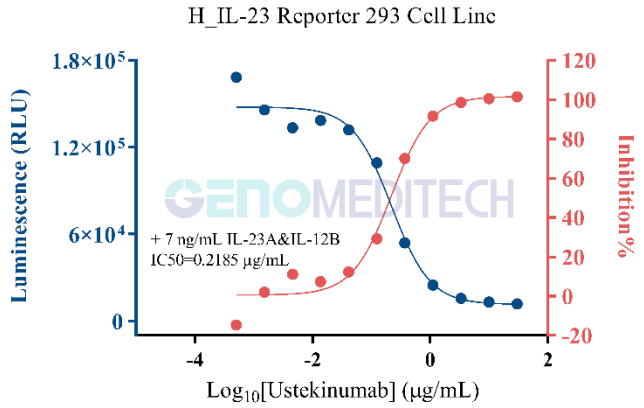
数量	5E6 Cells per vial,1 mL
产品形式	1 支冻存细胞
储运条件	干冰运输，－196°C 以下长期储存
复苏培养基	DMEM+10% FBS+1% P.S
生长培养基	DMEM+10% FBS+1% P.S+4 μg/mL Blasticidin+125 μg/mL Hygromycin+0.75 μg/mL Puromycin
培养备注	无
细胞冻存液	90% FBS+10% DMSO
生长特性	贴壁
培养条件	37°C, 5% CO_2
支原体检测	该细胞系已通过支原体检测，结果为阴性。
生物安全等级	Biosafety Level 2
备注	建议尽早扩增该细胞，并冻存至少 10 支，以便后续使用。

实验材料与仪器

名称	**Manufacturer/Catalogue No.**
DMEM	Gibco/C11995500BT
Fetal Bovine Serum	ExCell/FSP500
Pen/Strep	Thermo/15140-122
Blasticidin	Genomeditech/GM-040404
Hygromycin	Genomeditech/GM-040403
Puromycin	Genomeditech/GM-040401
Anti-IL-12/23(p40) hIgG1 antibody(Ustekinumab)	Genomeditech/GM-46333AB
Anti-IL-23R hIgG1 Antibody(5D4)	Genomeditech/GM-87786AB
Anti-Human CD212/IL12RB1 Antibody (148C09)	AtaGenix/FHE37110
Human IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein; His Tag	Genomeditech/GM-87924RP
Countess 3 Automated Cell Counter	ThermoFisher/A49891
SpectraMax® L Microplate Luminometer	Moleculardevices/SpectraMax L
96 well round cell culture plate	PakGent/CL-PT096
96-well White Opaque Plate	Thermo/236108
96-well U-bottom Plate	Saining/1014010
GMOne-Step 2.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit	Genomeditech/GM-040513

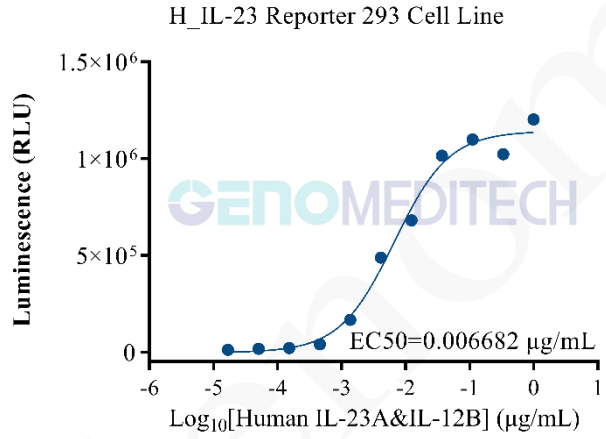
验证结果

应用



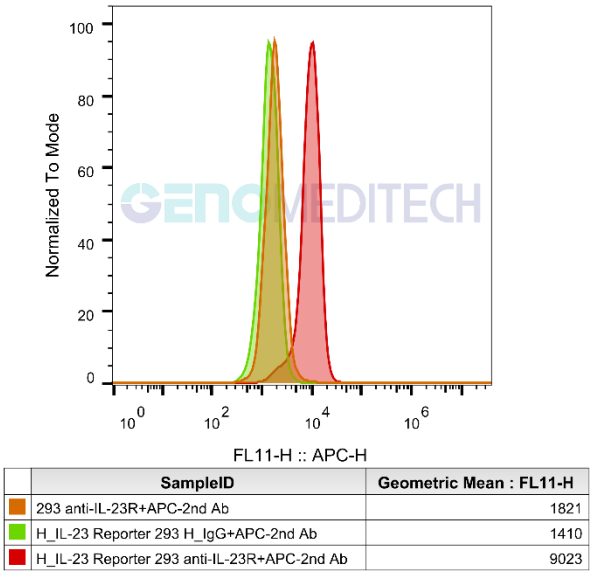
Anti-IL-12/23(p40) hIgG1 Reference Antibody (Ustebio) 抑制 Recombinant Human IL-23 (C-6His) 诱导的报告基因活性。将 H_IL-23 Reporter 293 细胞系（GM-C06722）按 1.5E4 细胞/孔接种于 96 孔板；将梯度稀释的 Anti-IL-12/23(p40) hIgG1 (Ustekinumab)抗体（GM-46333AB）与 0.7 ng/孔 的 Human IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein（GM-87924RP）于 assay buffer（DMEM + 1% FBS + 1% P.S）中预孵育 1 小时，随后加入上述细胞中继续孵育 15 小时，采用 Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech) 检测萤火虫荧光素酶活性。数据以药物质量浓度表示。

信号通路



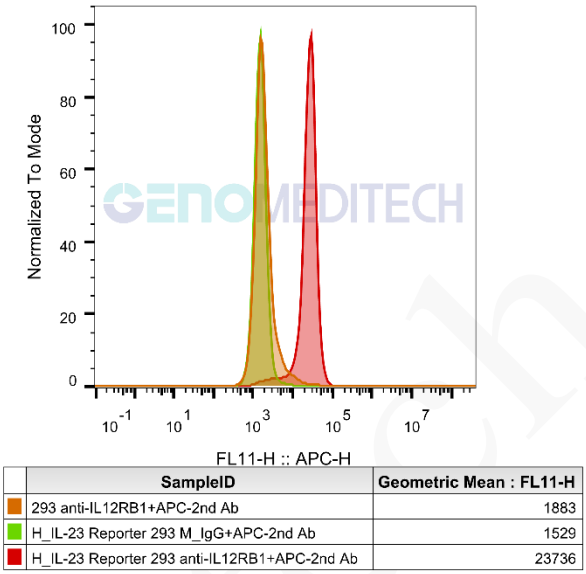
Human IL-23A&IL-12B Heterodimer 激活验证。H_IL-23 Reporter 293 细胞系（GM-C06722）按 1.5E4 细胞/孔接种于 96 孔板，加入梯度稀释的 Human IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein（GM-87924RP），于 assay buffer（DMEM + 1% FBS + 1% P.S）中孵育 16 小时后，采用 Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech) 检测萤火虫荧光素酶活性，最大诱导倍数约为 [95.1]，数据以药物质量浓度表示。 [protocol]

表达



	SampleID	Geometric Mean : FL11-H
	293 anti-IL-23R+APC-2nd Ab	1821
	H_IL-23 Reporter 293 H_IgG+APC-2nd Ab	1410
	H_IL-23 Reporter 293 anti-IL-23R+APC-2nd Ab	9023

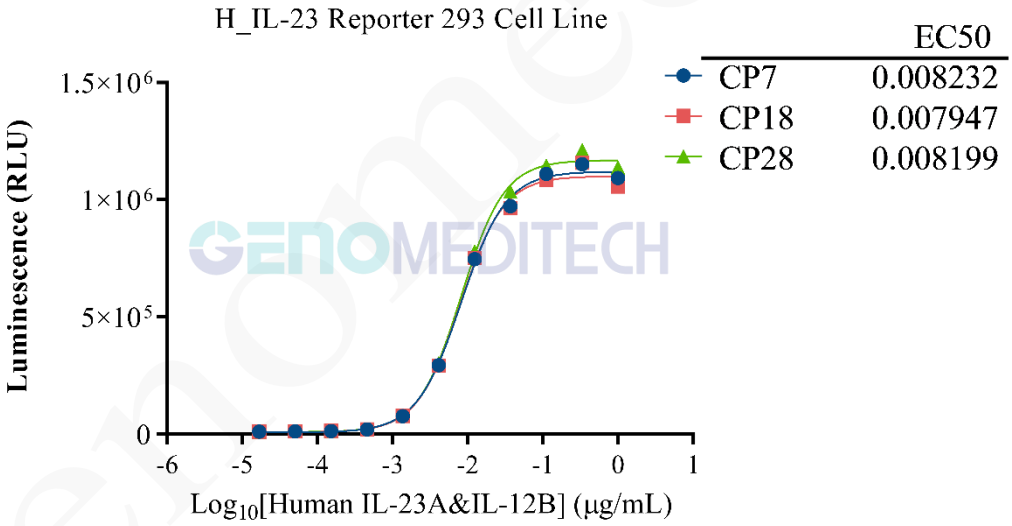
IL-23R 流式表达验证。采用流式细胞术，用 Anti-IL-23R hIgG1 Antibody(5D4)（GM-87786AB）检测 H_IL-23 Reporter 293 细胞系（GM-C06722）的 IL-23R 表达。



	SampleID	Geometric Mean : FL11-H
	293 anti-IL12RB1+APC-2nd Ab	1883
	H_IL-23 Reporter 293 M_IgG+APC-2nd Ab	1529
	H_IL-23 Reporter 293 anti-IL12RB1+APC-2nd Ab	23736

IL-12R β 1(CD212) 流式表达验证。采用流式细胞术，用 Anti-Human CD212/IL12RB1 Antibody (148C09) (AtaGenix/FHE37110) 检测 H_IL-23 Reporter 293 细胞系（GM-C06722）的 IL-12R β 1(CD212) 表达。

稳定性



传代稳定性：Human IL-23 (C-6His) 响应（第 7－28 代）。将 H_IL-23 Reporter 293 细胞系（GM-C06722）不同代次细胞按 1.5E4 细胞/孔接种于 96 孔板，加入梯度稀释的 Human IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein（GM-87924RP），于 assay buffer（DMEM + 1% FBS + 1% P.S）中孵育 16 小时后，采用 Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech) 检测萤火虫荧光素酶活性，数据以药物质量浓度表示。

细胞复苏

复苏培养基：DMEM+10% FBS+1% P.S

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。

a) 37℃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。

b) 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37℃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）。

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，176 × g，离心 3 min，使细胞沉淀，弃上清。

d) 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≥ 3E6 cells/mL。

e) 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 2-3E5 cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。

细胞冻存

细胞冻存液：90% FBS+10% DMSO

a) 使用 176 × g，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 5E6 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℃下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

细胞传代

生长培养基： DMEM+10% FBS+1% P.S+4 μg/mL Blasticidin+125 μg/mL Hygromycin+0.75 μg/mL Puromycin

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。

a) 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。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。

b) 将皿或培养瓶中的培养液弃去，10 cm 皿加 2 mL PBS 润洗 1 次。

c) 弃 PBS，加 1 mL 0.25% Trypsin-EDTA 消化液，37° C 消化 30-60 s，显微镜下观察。

d) 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。

e) 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%）。

细胞传代比例为 1:3-1:4，2-3 天传代。

培养备注

a) 细胞刚复苏，死细胞较多，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。

b) 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。

实验方案

激动剂激活实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 H_IL-23 Reporter 293 Cell Line 细胞量为 1.5 × 10^4 Cells/孔。本次实验使用 Human IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein（以下简称 Human IL-23A&IL-12B）作为阳性药物，Conc.01 浓度为 1 μg/mL， 3 倍梯度稀释，Conc.01-Conc.11 分别排布在 B2-B11，B12 为 0 浓度对照。周围为 100 μL PBS，以防止边孔蒸发。孔板布局：

	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	Human IL-23A&IL-12B	1.00 μg/mL	333.33 ng/mL	111.11 ng/mL	37.04 ng/mL	12.35 ng/mL	4.12 ng/mL	1.37 ng/mL	457.25 pg/mL	152.42 pg/mL	50.81 pg/mL	16.94 pg/mL	0
C		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D													
E													
F													
G													
H													

加样步骤

a) 在实验前 16-24 h，将细胞从培养瓶中取出，消化离心收集细胞沉淀，使用适量完全培养基重悬细胞，检测细胞活力并计数，再以完全培养基调整细胞浓度为 1.5 × 10^5 cells/mL。以排枪加 100 μL 细胞/孔至中间 11 个孔。周围的孔加 100 μL PBS。盖上板盖，于孵箱中孵育过夜使用。

b) 使用 1 个无菌 96 孔 U 底板准备药物稀释。

c) 每个待测药物，使用一行（如 B2-B11）。

d) 母液配置

药物名称	储液	母液	配置方法
Human IL-23A&IL-12B	2 mg/mL	0.02 mg/mL	取 2 μL 储液+198 μL Assay Buffer

e) 96 孔 U 孔中，加入 Assay Buffer，各孔体积见下表，如 B1 孔加入 180 μL Assay Buffer，B2-B12 孔，加入 120 μL Assay Buffer。

f) 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 B1 中加入 9.47 μL Human IL-23A&IL-12B），混匀。

	母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 60 μL，加入次孔										对照孔
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	9.47 μL Human IL-23A&IL-12B	180 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL
C													
D													
E													
F													
G													
H													

g) 从第 1 个梯度稀释孔 B1 中吸取 60 μL，加入到第 2 个梯度稀释孔 B2，充分混匀。

h) 以此类推，直至第 11 个梯度稀释孔（B11）。

i) 将步骤 a 孵育过夜的孔板取出，吸弃上清。

j) 加入之前准备好的梯度稀释液，每孔 100 μL。

k) 盖上板盖，于 37 ℃ CO_2 培养箱中培养 16 h。

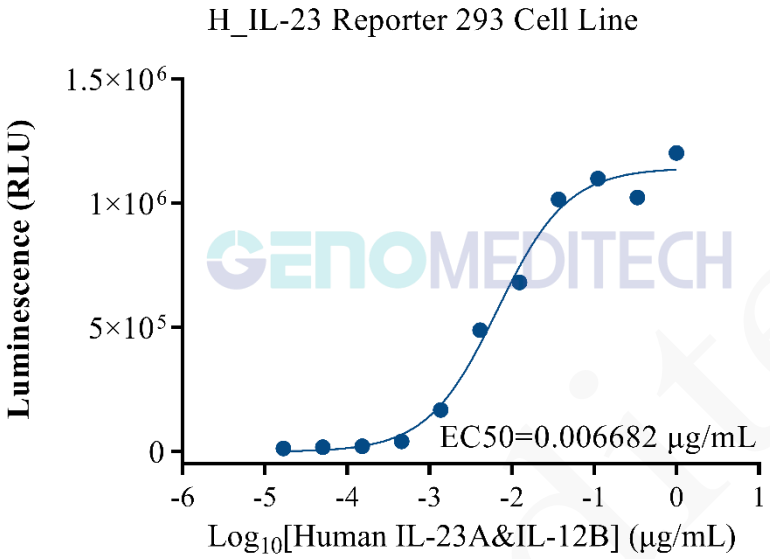
l) 收样，转至 96 孔白底板上机，检测 Luciferase。

报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_IL-23 Reporter 293 Cell Line	0 μg/mL	1.00 μg/mL	16.94 pg/mL
	12636	1202168	10998

验证结果



相关产品

IL-23	
H_IL-23 Reporter 293 DDX35TM Cell Line	Cynomolgus_IL-23R HEK-293 Cell Line
H_IL-23R HEK-293 Cell Line	H_IL-23R IL12RB1 HEK-293 Cell Line
Membrane bound H_IL-23 CHO-K1 Cell Line	
Anti-IL23A hIgG1 Reference Antibody (Gusebio)	Anti-IL23A hIgG1 Reference Antibody (Risbio)
Anti-IL-23R hIgG1 Antibody(5D4)	
Biotinylated Human IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein; His-Avi Tag	Cynomolgus IL-23A & Human IL-12B Heterodimer Protein; His Tag
Cynomolgus IL-23A & Mouse IL-12B Heterodimer Protein; His Tag	Cynomolgus IL-23R Protein; hFc Tag
Human IL-23A & Mouse IL-12B Heterodimer Protein; His Tag	Human IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein; His Tag
Human IL-23R Protein; hFc Tag	Human IL-23R Protein; His Tag
Mouse IL-23A&IL-12B Heterodimer Protein; His Tag	
TNF:TNFR2:TNFR1	
H_TNFR2 Null Reporter Cell Line	H_TNFR2 Reporter Jurkat Cell Line
H_TNFR2 Reporter V2 Cell Line	Cynomolgus_TNFRSF1B(TNFR2) CHO-K1 Cell Line
H_TNFR1 CHO-K1 Cell Line	H_TNFRSF1B(TNFR2) CHO-K1 Cell Line
H_TNFRSF1B(TNFR2) HEK-293 Cell Line	Membrane Bound H_TNFα CHO-K1 Cell Line
Membrane Bound H_TNFα(cleavage-resistant) CHO-K1 Cell Line	
Anti-H_TNFRSF1B(TNFR2) hIgG1 Antibody(UC2.3.8)	Anti-TNFR1 hIgG1 Antibody(Atrosab)

Anti-TNF-α hIgG1 Reference Antibody (Adabio)	
Cynomolgus TNF alpha Protein; His Tag	Cynomolgus TNFR2 Protein; His Tag
Human TNF alpha Protein; hFc Tag	Human TNF alpha Protein; His Tag
Human TNF beta Protein; hFc Tag	Human TNF beta Protein; His Tag
Human TNFR1 Protein; hFc Tag	Human TNFR1 Protein; His Tag
Human TNFR2 Protein; hFc Tag	Human TNFR2 Protein; His Tag
TL1A:DR3(TNFRSF25)	
H_TNFRSF25(DR3) Reporter Jurkat Cell Line	H_TNFSF15(TL1A) Reporter Cell Line
Mouse_TNFRSF25(DR3) Reporter Jurkat Cell Line	Cynomolgus_TNFRSF25(DR3) CHO-K1 Cell Line
Cynomolgus_TNFSF15(TL1A) HEK-293 Cell Line	H_TNFRSF25(DR3) CHO-K1 Cell Line
H_TNFRSF25(DR3) HEK-293 Cell Line	H_TNFSF15(TL1A) CHO-K1 Cell Line
H_TNFSF15(TL1A) HEK-293 Cell Line	Membrane Bound H_TNFSF15(TL1A) (cleavage-resistant) HEK-293 Cell Line
Mouse_TNFSF15(TL1A) HEK-293 Cell Line	
Anti-H_TNFSF15(TL1A) hIgG1 Antibody(PF-06480605)	Anti-H_TNFSF15(TL1A) hIgG1 Antibody(Tulisokibart、PRA-023)
Anti-H_TNFSF15(TL1A) hIgG4 Antibody	Anti-TL1A hIgG1 Reference Antibody (Duvbio)
Anti-TL1A hIgG1 Reference Antibody (Tulbio)	Anti-TNFRSF25(DR3) hIgG1 Antibody(PTX-35)
Biotinylated Cynomolgus TL1A Protein; His-Avi Tag	Biotinylated Human TL1A Protein; His-Avi Tag
Cynomolgus TL1A Protein; His Tag	Human TL1A Protein; hFc Tag
Human TL1A Protein; His Tag	Human TL1A Protein; His Tag (Trimer Design)
ITGA4 ITGB7	
Cynomolgus_α4β7 CHO-K1 Cell Line	H_ITGB7 CHO-K1 Cell Line
H_ITGB7 HEK-293 Cell Line	H_MADCAM1 CHO-K1 Cell Line
H_MADCAM1 HEK-293 Cell Line	H_α4β7 CHO-K1 Cell Line
H_α4β7 HEK-293 Cell Line	H_αEβ7 CHO-K1 Cell Line
H_αEβ7 HEK-293 Cell Line	H_αEβ7 K562 Cell Line
Anti-Integrin α4β7 hIgG1 Reference Antibody (Vedobio)	
Human MAdCAM-1 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。