

产品手册

H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line

H_TREM1 Reporter Jurkat 细胞系

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V2.8.240522

目录

一、	产品基本信息及组分.....	3
二、	包装、运输及储存.....	3
三、	产品描述.....	4
四、	材料准备.....	5
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	5
2.	试剂耗材准备.....	5
五、	细胞复苏、传代、冻存.....	6
1.	H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞复苏.....	6
2.	H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞传代.....	6
3.	H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞冻存.....	6
六、	使用方法.....	8
1.	激活验证实验.....	8
1)	加样步骤.....	8
2)	报告基因检测.....	9
3)	验证结果.....	10
2.	抑制验证实验.....	11
1)	加样步骤.....	11
2)	报告基因检测.....	12
3)	验证结果.....	13
	使用许可协议:	14

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-C15720	H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C15720	H_TREM1 Reporter Jurkat 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 Assay，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、 产品描述

在骨髓细胞上表达的触发受体 1 (TREM-1) 是一种由 TREM1 基因编码的蛋白质。单核细胞/巨噬细胞和中性粒细胞介导的炎症反应可被多种受体刺激产生，包括 G 蛋白偶联受体（例如，FPR1）、Fc 受体、CD14、Toll 样受体 (TLR；例如，TLR4) 和细胞因子受体。TREM-1 通过进一步增加促炎细胞因子的产生来放大 toll 样受体诱导的炎症。

TREM-1 与同型二聚体 DAP12 结合，导致其上的免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM) 被酪氨酸激酶磷酸化。从而募集脾酪氨酸激酶 SYK 和 ZAP70，从而激活 PLC 通路，提高细胞内 Ca^{2+} 浓度，诱导抗炎细胞因子反应，导致转录因子被激活。

吉满生物 H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 报告基因细胞系，是基于 PLC 信号通路构建的一种 Luciferase 报告基因细胞系。通过转录因子的激活，从而激活荧光素酶(Luciferase) 的表达。Luciferase 读值即代表信号通路的激活效果，因此可用于 TREM1 相关药物的体外效果评价。

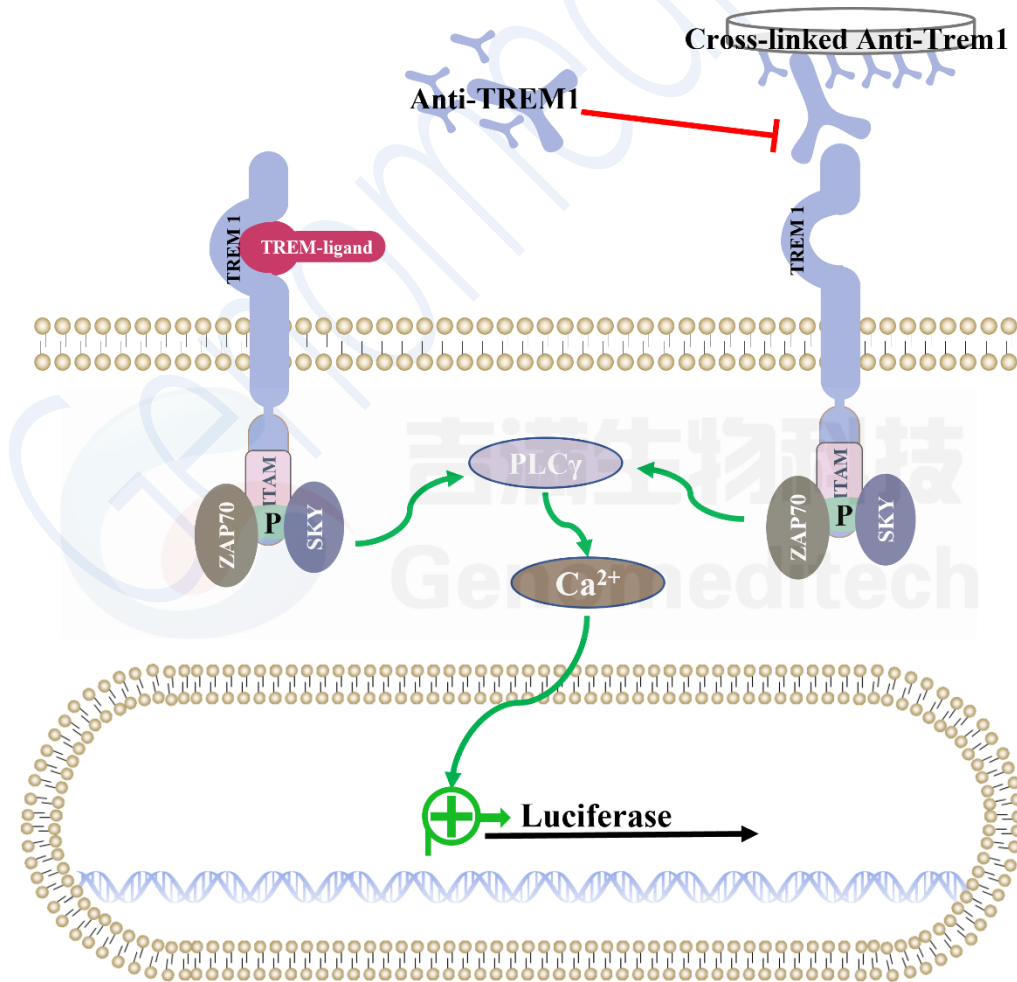


Fig1.TREM1 原理图

四、 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+0.75 µg/mL Puromycin+3.5 µg/mL Blasticidin
细胞冻存培养基:	90% FBS+10%DMSO
Assay Buffer:	RPMI 1640+1% FBS+1% P.S

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
Blasticidin	10 mg	Genomeditech/GM-040404-1
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Fetal Bovine Serum	500 mL	Cegrogen/A0500-3010
RPMI 1640	500 mL	Vivacell/C3010-0500
96 Well Clear V-Bottom Tissue Culture	96-well	Corning/3894
Clear Flat-Bottom Immuno Nonsterile 96-Well Plates	96-well	Thermo/442404
96 well White Flat Bottom Polystyrene Not Treated Microplate	96-well	Corning/3912
Anti-H_TREM1 hIgG1 Antibody	/	Genomeditech/GM-26835AB
Luciferase Assay Kit	100 tests	Genomeditech/GM-040501A

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
酶标仪	Moleculardevices/SpectraMax L

五、 细胞复苏、传代、冻存

1. H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞复苏

- 细胞冻存密度为 5×10^6 cells/mL，冻存管分装 1 mL。
- 在 37°C 水浴锅预热培养基，加入预热完全培养基 5 mL 到 15 mL 离心管。
- 从液氮中取出冻存的细胞并迅速放入 37°C 恒温水浴锅，将细胞液面浸至水面以下不断摇动至融化。
- 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预先加有预热好的 15 mL 离心管中，轻轻混匀，1000 rpm，离心 5 min 使细胞沉淀，弃上清。
- 冻存细胞离心后收集沉淀，使用 1 mL 完全培养基重悬。取出部分使用台盼蓝染色计数活细胞，细胞 $\geq 3 \times 10^6$ cells/mL。
- 通过补加培养基的形式调整活细胞密度为 $4-6 \times 10^5$ cells/mL，将细胞悬液接种至 1-2 个 T25 中（3-5 mL 悬液），竖瓶培养。

2. H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞传代

- 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完全培养基。若 48 h 未传代，建议适当补加培养基，瓶体改为横向放置。
- 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。
- 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新鲜培养液，然后将细胞吹打均匀后移入新的 T25 培养瓶中继续培养。
- 该细胞对细胞密度较为敏感，培养、传代时请注意保持细胞密度在合适的范围。
- 注意营养，不处理时务必隔天适当补加培养基。

3. H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞冻存

- 细胞冻存液：90% FBS+10% DMSO。
- 使用 1000 rpm，3 min 离心收集细胞。
- 使用预冷细胞冻存液重悬细胞，细胞密度调整为 5×10^6 cells/mL。

- d) 每管 1 mL 分装到细胞冻存管中，冻存体积为 1 mL，冻存密度为 5×10^6 cells/mL。
拧紧盖子，适当标记后，将细胞冻存管置于梯度降温盒中，在 -80°C 下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

Genomeditech

六、 使用方法

1. 激活验证实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞量为 1×10^5 cells/孔。本次实验使用 Anti-H_TREM1 hIgG1 Antibody (150 kDa) 作为阳性药物，Conc.01 浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ ，2 倍梯度稀释，Conc.01-Conc.09 分别排布在 B2-B10，B11 为 0 浓度对照。周围孔加入 100 μL PBS，以防止边孔蒸发。

孔板排布如下：

	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	Anti-H_TREM1	20 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	5 $\mu\text{g/mL}$	2.5 $\mu\text{g/mL}$	1.25 $\mu\text{g/mL}$	625 ng/mL	312.5 ng/mL	156.25 ng/mL	78.13 ng/mL	0	PBS
C	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D												
E												
F												
G												
H												

1) 加样步骤

- 使用 1 个无菌 96 孔 V 底板准备药物稀释。
- 每个待测抗体，使用一行（如 B2-B10）。
- 母液配置

药物名称	储液	母液	配置方法
Anti-H_TREM1	1 mg/mL	/	直接使用储液

- 96 孔 V 底板中，加入包被液（15 mM Na₂CO₃，35 mM NaHCO₃，pH 9.6），各孔体积见下表，如 B2 孔加入 215.6 μL 包被液，B3-B11 孔，加入 110 μL 包被液。
- 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 B2 中加入 4.4 μL Anti-H_TREM1），混匀。

母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 110 μ L，加入次孔										对照孔	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	4.4 μ L Anti-H_TREM1	215.6 μ L	110 μ L	110 μ L	110 μ L	110 μ L	110 μ L	110 μ L	110 μ L	110 μ L	110 μ L	
C												
D												
E												
F												
G												
H												

- f) 从第一个梯度稀释孔 B2 中吸取 110 μ L，加入到第二个梯度稀释孔 B3，充分混匀。
- g) 以此类推，直至第 9 个梯度稀释孔 (B10)。
- h) 将梯度稀释液加入到高结合板中，100 μ L 每孔，于 4°C 过夜后使用。
- i) 在实验前 1 h，将细胞从培养瓶中取出，离心收集细胞沉淀，使用 Assay Buffer 重悬，检测细胞活力并计数，再以 Assay Buffer 调整细胞浓度为 1×10^6 cells/mL。
- j) 将步骤 h 包被过夜的孔板取出，Assay Buffer 润洗 2 遍后，加入步骤 i 准备好的细胞悬液，每孔 100 μ L。
- k) 盖上班盖，于 37 °C CO₂ 培养箱中培养 24 h。
- l) 使用报告基因检测试剂盒，检测 Luciferase。

2) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line	PBS Control	20 μ g/mL	78.13 ng/mL
	1863	302701	1693

3) 验证结果

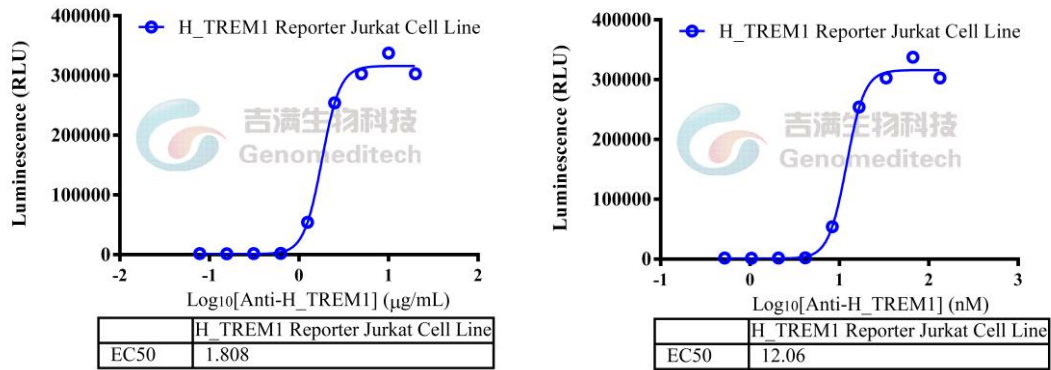


Fig 2. 功能验证结果

(右图对药物或抗体进行质量浓度和摩尔浓度的换算后绘制)

2. 抑制验证实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞量为 1×10^5 cells/孔。本次实验使用包被液配置 1.808 $\mu\text{g/mL}$ Anti-H_TREM1 的抗体悬液作为激活剂，Anti-H_TREM1 hIgG1 Antibody (150 kDa) 作为阳性抗体，Conc.01 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ ，3 倍梯度稀释，Conc.01-Conc.09 分别排布在 B2-B10，B11 为 0 浓度对照。周围孔加入 100 μL PBS，以防止边孔蒸发。

孔板排布如下：

	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	1.808 $\mu\text{g/mL}$ Anti-H_TREM1+	100 $\mu\text{g/mL}$	33.33 $\mu\text{g/mL}$	11.11 $\mu\text{g/mL}$	3.7 $\mu\text{g/mL}$	1.23 $\mu\text{g/mL}$	411.52 ng/mL	137.17 ng/mL	45.72 ng/mL	15.24 ng/mL	0	PBS
C	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D												
E												
F												
G												
H												

1) 加样步骤

- 使用包被液配置 1.808 $\mu\text{g/mL}$ Anti-H_TREM1 抗体悬液（2 μL 1 mg/mL 的 Anti-H_TREM1 加入到 1.106 mL 包被液中），100 μL 每孔，加入到高结合板中，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜后待用。
- 实验前 1h，使用 1 个无菌 96 孔 V 底板准备抗体稀释。
- 每个待测抗体，使用一行（如 B2-B10）。
- 母液配置

药物名称	储液	母液	配置方法
Anti-H_TREM1	1 mg/mL	/	直接使用储液

- 96 孔 V 底板中，加入 Assay Buffer，各孔体积见下表，如 B2 孔加入 66 μL Assay Buffer，B3-B11 孔，加入 55 μL Assay Buffer。
- 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 B2 中加入 16.5 μL Anti-H_TREM1），混匀。

母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 27.5 μL ，加入次孔										对照孔	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	16.5 μL Anti-H_TREM1	66 μL	55 μL	55 μL	55 μL	55 μL	55 μL	55 μL	55 μL	55 μL	55 μL	
C												
D												
E												
F												
G												
H												

- g) 从第一个梯度稀释孔 B2 中吸取 27.5 μL ，加入到第二个梯度稀释孔 B3，充分混匀。
- h) 以此类推，直至第 9 个梯度稀释孔 (B10)。
- i) 将细胞从培养瓶中取出，离心收集细胞沉淀，使用 Assay Buffer 重悬，检测细胞活力并计数，再以 Assay Buffer 调整细胞浓度为 2×10^6 cells/mL。
- j) 将步骤 a 包被过夜的孔板取出，Assay Buffer 润洗 2 遍后，加入步骤 i 准备好的细胞悬液，每孔 50 μL 。
- k) 加入步骤 h 准备好的梯度稀释液，50 μL 每孔。
- l) 盖上班盖，于 37°C CO₂ 培养箱中培养 24 h。
- m) 使用报告基因检测试剂盒，检测 Luciferase。

2) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_TREM1 Reporter Jurkat Cell Line	PBS Control	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	15.24 ng/mL
	71758	8131	79807

3) 验证结果

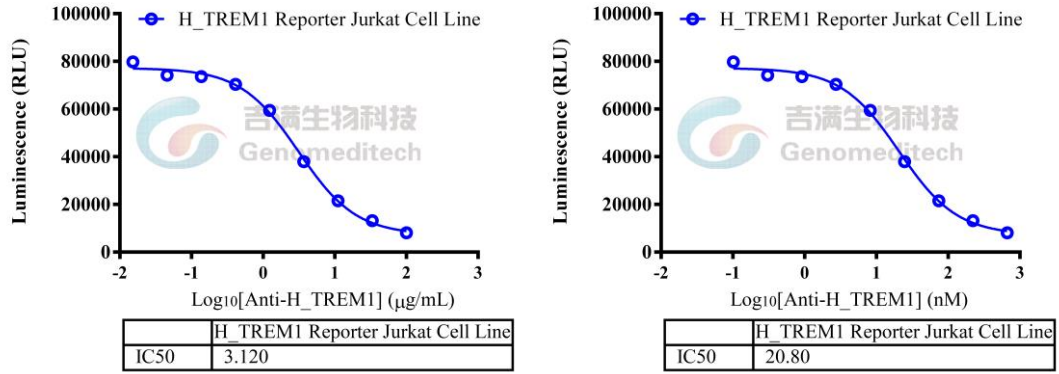


Fig 3.功能验证结果

(右图对药物或抗体进行质量浓度和摩尔浓度的换算后绘制)

使用许可协议:

吉满生物将其许可材料的所有知识产权，独占的、不可转让的和不可发放分许可的权利授予给被许可人；吉满生物将保留许可材料、细胞系历史包、子代、包括修改材料中许可材料的所有权。

在吉满生物和被许可方之间，被许可方不允许以任何方式修改细胞系。被许可方不得分享、分发、出售、再授权或以其他方式将被许可材料、子代提供给其它实验室、部门、研究机构、医院、大学或生物技术公司等第三方非基于外包被许可人的研究目的而使用。

详情请参考吉满细胞系授权协议。

Genomeditech