

BTLA/SHP2 Reporter Cell

CBP74177

操作说明书



4008-750-250

目录



1. 背景信息	2
2. 产品介绍	2
3. 细胞基本信息	3
4. 主要仪器试剂耗材	4
5. 细胞培养	4
5.1 细胞复苏	4
5.2 细胞传代	4
5.3 细胞冻存	4
6. 细胞实验流程	5
6.1 BTLA/HVEM Blockade Assay	5
7. 数据展示	7
8. 相关产品	7

1. 背景信息

BTLA 是一种含有免疫球蛋白结构域的糖蛋白，表达于 T 细胞、休眠性 B 细胞、巨噬细胞、树突状细胞和少部分 NK 细胞上。BTLA 作为 T 细胞的抑制受体，抗 BTLA 治疗可导致 T 细胞增殖，BTLA 基因敲除小鼠表现出高反应性免疫激活。HVEM 是一种肿瘤坏死因子受体，在小鼠和人类中被鉴定为 BTLA 的天然配体。抗原呈递细胞（APCs）表达 HVEM 可诱导 BTLA 依赖性 T 细胞抑制。

2. 产品介绍

科佰生物推出 BTLA/SHP2 Reporter Cell 报告基因细胞，在由调控因子并表达报告基因的重组细胞上，稳定表达人 BTLA。见图 1 流式验证 BTLA 表达。

	Population Name	Mean , FL2-A
	BTLA / SHP2 Reporter Cells+anti-BTLA	5.17E6
	Control cell+anti-BTLA	5172

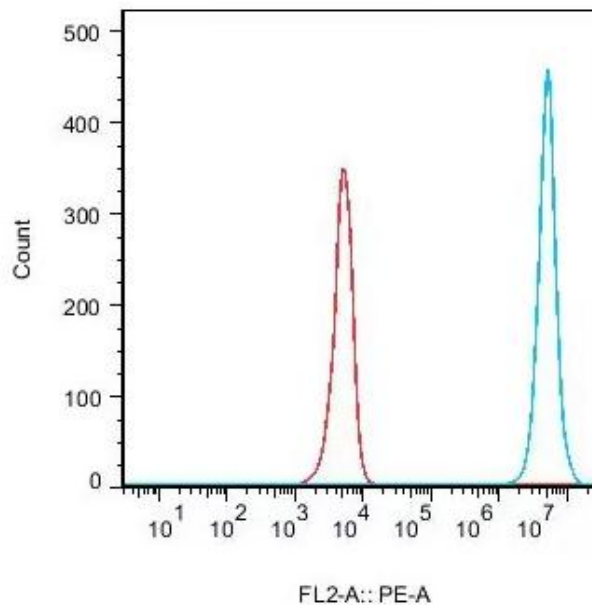


图 1: BTLA/SHP2 Reporter Cell 细胞稳定表达人 BTLA

报告基因细胞模型可以很好的反映分子作用机制，同时具备更小的变异性和更好的可操作性，已被中检院及药企广泛应用于抗体药物生物活性的检定，对于药物研发、质量控制、批次放行都有重要意义。

BTLA/HVEM 报告基因药靶模型很好的模拟了体内 BTLA/HVEM 的信号转导过程，原理见图 2 所示。

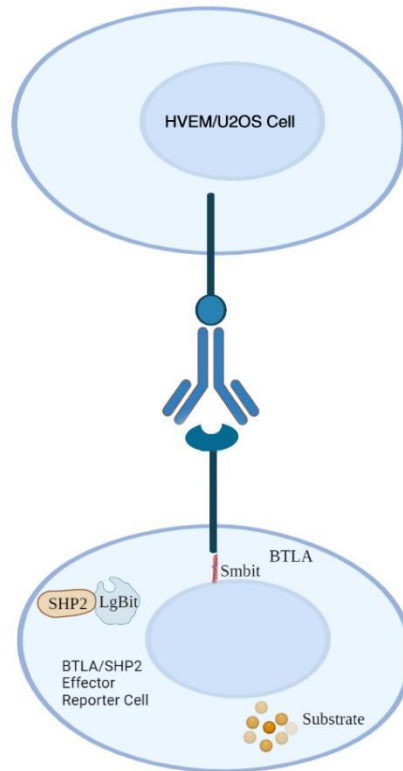


图 2: BTLA/HVEM 细胞模型原理图

3. 细胞基本信息

表达基因: BTLA

传代培养基: RPMI-1640+10%FBS+1ug/ml puromycin+5ug/ml blasticidin

细胞冻存液: 90% FBS+10% DMSO

细胞形态: 悬浮

支原体检测: 阴性

稳定性: 32 代（室内测试结果，不表示超过 32 代以上不稳定）

保存条件: 液氮保存

应用: 细胞水平 BTLA 信号传导的激活剂或抑制剂的活性检测，可用于高通量筛选或 QC 放行

4. 主要仪器试剂耗材

名称	品牌	货号
BTLA/SHP2 Reporter Cell 完全培养基	Cobioer	CBP74177M
细胞冻存液	Cobioer	CBP50089
HVEM/U2OS 细胞	Cobioer	CBP74178
Icatolimab	/	/
Ultra Luciferase Detection Kit	Cobioer	CBPH0001
96 Well Assay Plate (White Plate, Clear Bottom with Lid Tissue Culture Treated Polystyrene 1/Pack)	Costar	3610
Synergy H1 多功能酶标仪	Biotek	/

5. 细胞培养

5.1 细胞复苏

- 1) 在 37°C 水浴中快速融化细胞约 60 秒。一旦细胞解冻（可能比 60 秒稍快或稍慢），快速将冻存管中的细胞吸入装有 10 ml 预热 BTLA/SHP2 Reporter Cell 完全培养基的 15 ml 离心管中。
- 2) 1000 转、5 分钟离心细胞，除去培养基并将细胞重悬于 5 ml 预热的完全培养基中。
- 3) 调整细胞密度到 $3-6 \times 10^5$ cells/ml，加入 T25 培养瓶中，放入 37°C、5% CO₂ 培养箱中。

5.2 细胞传代

每 1-2 天取细胞悬液计数，当密度大于 1×10^6 cells/ml 时,请及时传代或补加新鲜完全培养基. 保持细胞密度在 $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ cells/ml 之间。

5.3 细胞冻存

取 $4-8 \times 10^6$ 细胞离心后弃上清。加 1ml 细胞冻存液(90% FBS+10%DMSO)，吹打均匀，加

入细胞冻存管。立即放入细胞冻存盒（Nalgene 5100-0001），加异丙醇到刻度线，放-80°C 冰箱。24 小时后将冻存管转到液氮中长期保存。

6. 细胞实验流程

6.1 BTLA/HVEM Blockade Assay

BTLA/HVEM Blockade Assay 由报告细胞 BTLA/SHP2 Reporter Cell, Cat. #CBP74177 细胞和靶细胞 HVEM/U2OS, Cat. #CBP74178 细胞配对开展, 本实验中使用 Icatolimab 作为测试样本, 对本模型的生物功能进行验证。

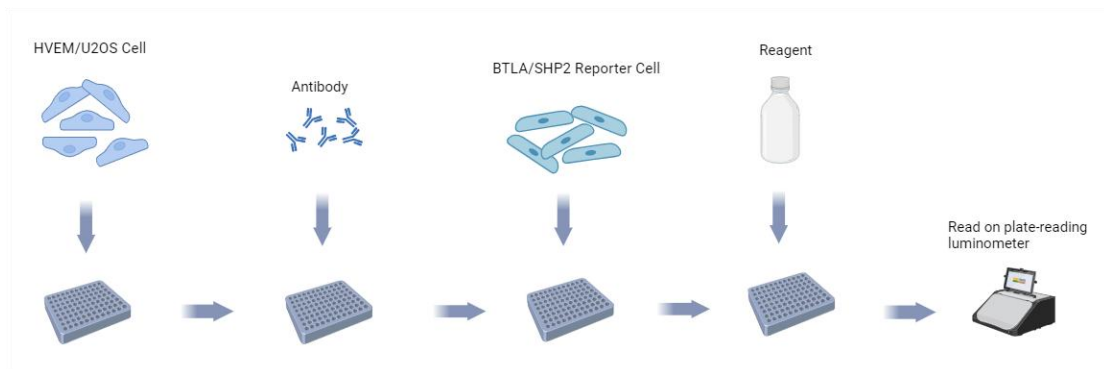


图 3: BTLA/HVEM Blockade Assay 流程示意图

- 1) 取对数生长的 HVEM/U2OS 细胞，胰酶消化用 DPBS 洗涤一次，离心弃去 DPBS，然后重悬于新鲜的含 2%FBS 的 Opti-MEM 培养基中，将重悬的细胞密度调整为 4×10^5 cells/ml。
- 2) 将重悬的细胞接种到白壁透明底的 96 孔细胞培养板中，50 ul/孔细胞悬液，37°C 培养箱培养过夜。
- 3) 第二天用含 2%FBS 的 Opti-MEM 培养基对测试样本进行梯度稀释，加入梯度稀释的 2* 浓度样品（25 ul/孔）到接种好细胞的 96 孔板中，样本从最高浓度 40 ug/ml（4* 浓度）开始，3 倍稀释 11 个浓度梯度，并另外设置空白培养基对照孔。（注意：样品浓度及梯度设置跟样品本身的特性及客户的实验需求高度相关，客户应根据自身的实际情况优化设置，我们不做具体推荐，本梯度稀释方案仅适用我们本次验证实验涉及样本）
- 4) 取对数期生长的 BTLA/SHP2 Reporter Cell 细胞离心弃上清，用 DPBS 洗涤一次，离心弃去 DPBS，重悬于新鲜的含 2%FBS 的 Opti-MEM 培养基中将重悬的细胞密度调整为 1.6×10^6 cells/ml，然后将细胞加入步骤 3 的 96 孔板中，每孔 25 ul，放置 37°C 培养箱中

继续培养 2 小时。

- 5) 将 Nano-Glo® Live Cell Assay System 中的 Nano-Glo® Live Cell Substrate 用 Nano-Glo® LCS Dilution Buffer 稀释 20 倍，配制成 5*检测液。
- 6) 将步骤 4)的 96 孔板从培养箱中取出，加入 25ul/孔 步骤 5)中配制的 5*检测液，然后剧烈震荡 15 到 30 秒，然后放置 10 到 20 分钟放入酶标仪中读取数值。
- 7) 根据每个梯度浓度孔对应的读值，利用 Prism Graphpad 软件拟合样品对细胞激活的梯度曲线，并且计算样品的 EC50。

孔板排布：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Assay Buffer
B	Buffer	no Antibody	稀释9	稀释8	稀释7	稀释6	稀释5	稀释4	稀释3	稀释2	稀释1	Buffer	参考样本
C	Buffer	no Antibody	稀释9	稀释8	稀释7	稀释6	稀释5	稀释4	稀释3	稀释2	稀释1	Buffer	测试样本1
D	Buffer	no Antibody	稀释9	稀释8	稀释7	稀释6	稀释5	稀释4	稀释3	稀释2	稀释1	Buffer	测试样本2
E	Buffer	no Antibody	稀释9	稀释8	稀释7	稀释6	稀释5	稀释4	稀释3	稀释2	稀释1	Buffer	参考样本
F	Buffer	no Antibody	稀释9	稀释8	稀释7	稀释6	稀释5	稀释4	稀释3	稀释2	稀释1	Buffer	测试样本1
G	Buffer	no Antibody	稀释9	稀释8	稀释7	稀释6	稀释5	稀释4	稀释3	稀释2	稀释1	Buffer	测试样本2
H	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Buffer	Assay Buffer

图 4: 96 孔板排布建议案例展示

7. 数据展示

Inhibition of HVEM Induced SHP2 Recruitment In BTLA/SHP2 Reporter Cells (C11) By Samples With HVEM/U2OS Cells (C7)

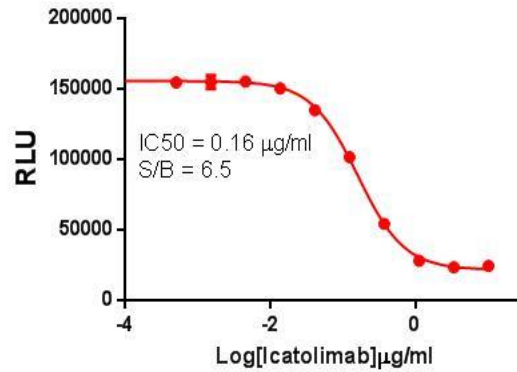


图 5: BTLA/HVEM Blockade Assay 验证结果 (测试样本: Icatolimab)

8. 相关产品

名称	货号
BTLA Effector Reporter Cell	CBP74118
BTLA/SHP2 Reporter Cell	CBP74177
HVEM/U2OS Cell	CBP74178
HVEM/TCR Activator/CHO	CBP74082
HVEM/NFκB-Luc/Jurkat	CBP74013
HVEM/HEK293	CBP74047
HVEM/CHO	CBP74037
FCγR aAPC Cell	CBP74185