

CD155/TCR Activator/CHO

CBP74073

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 TIGIT/CD155 Blockade Assay	5
7. 数据展示	7
8. 相关产品	7

1. 背景信息

CD155 是 TIGIT 的高亲和力配体，TIGIT 可与 DNAM-1 竞争性结合 CD155，肿瘤表面高表达的 CD155 一旦与 NK 和 T 细胞表面的 TIGIT 结合，NK 和 T 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用就会被抑制。当然，CD112 也可与 TIGIT 结合，不过亲和力弱得多。总而言之，若能够阻断 TIGIT 与 CD155 的结合将阻断该通路的免疫抑制功能，与此同时 DNAM-1 将竞争性地与 CD155 结合反而激活免疫活化通路。

2. 产品介绍

科佰生物推出 CD155/TCR Activator/CHO 细胞模型，将 CD155 和 TCR Activator 一起构建到 CHO 细胞上。CD155/TCR Activator/CHO 稳定表达人 CD155。见图 1 流式验证 CD155 表达。

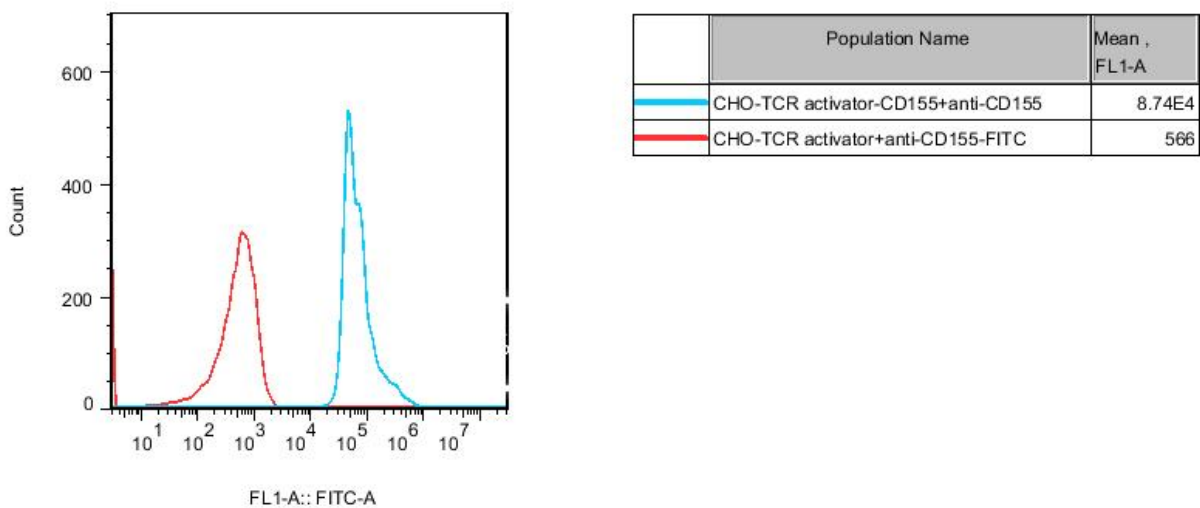


图 1: CD155/TCR Activator/CHO 细胞稳定表达人 CD155

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。

TIGIT/CD155 报告基因药靶模型很好的模拟了体内 TIGIT/CD155 的信号转导过程，原理见图 2 所示。

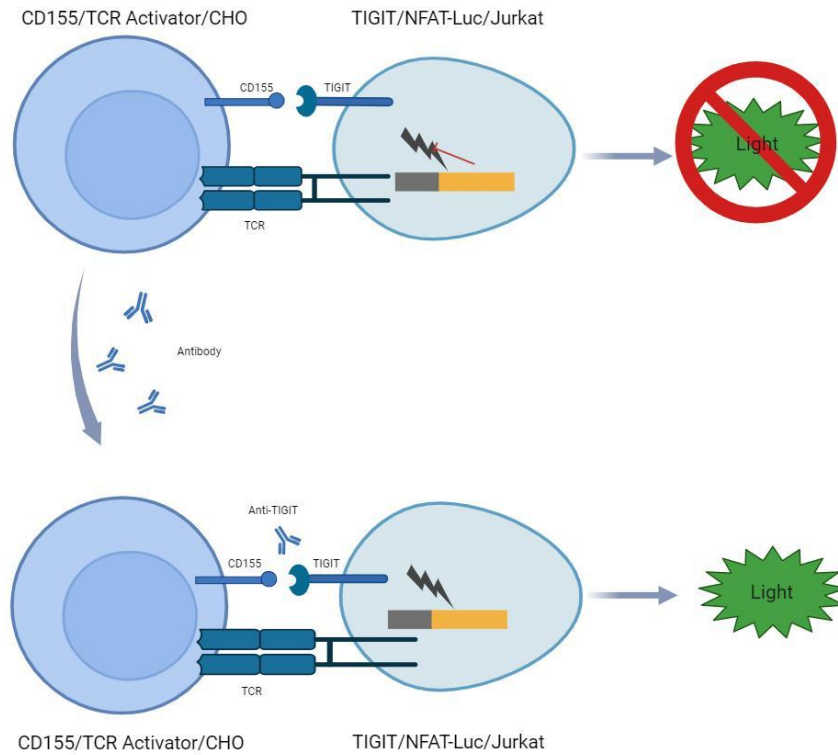


图 2: TIGIT/CD155 细胞模型原理图

3. 细胞基本信息

母细胞: CHO

表达基因: CD155;TCR Activator

传代培养基: F12K+10%FBS+1ug/ml puromycin+800ug/ml hygromycin

细胞冻存液: 90% FBS+10% DMSO

细胞形态: 贴壁

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 TIGIT/CD155 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
CD155/TCR Activator/CHO 完全培养基	Cobioer	CBP74073M
细胞冻存液	Cobioer	CBP50089
TIGIT/NFAT-Luc/Jurkat 细胞	Cobioer	CBP74020
Anti-TIGIT mAb	Cobioer	CBP74020A
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 CD155/TCR Activator/CHO 完全培养基的 15ml 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) 加入 T25 培养瓶中，放入 37°C、5% CO₂ 培养箱中。
- 4) 复苏 24-36 小时左右换液或传代，将未贴壁的死细胞去掉。

5.2 细胞传代

- 1) 当细胞密度符合传代要求时，PBS 清洗细胞，加入 1ml 胰酶，消化细胞传代。当 80%以上细胞培养瓶轻轻晃动能脱落时，加培养基终止消化，吹打成单细胞，吸入 15ml 离心管，1000 转离心 5 分钟。
- 2) 离心后弃上清，加入新培养基吹打重悬细胞成单细胞，加入新的培养瓶中继续培养。

5.3 细胞冻存

每个 T75 或 10cm 培养皿的细胞消化离心后弃上清。加 2ml 细胞冻存液(90% FBS+10%DMSO), 吹打均匀, 加入 2 个细胞冻存管。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 TIGIT/CD155 Blockade Assay

TIGIT/CD155 Blockade Assay 由报告细胞 TIGIT/NFAT-Luc/Jurkat, Cat. #CBP74020 细胞和靶细胞 CD155/TCR Activator/CHO, Cat. #CBP74073 细胞配对开展, 本实验中使用 Anti-TIGIT mAb, Cat.#CBP74020A 作为测试样本, 对本模型的生物功能进行验证。

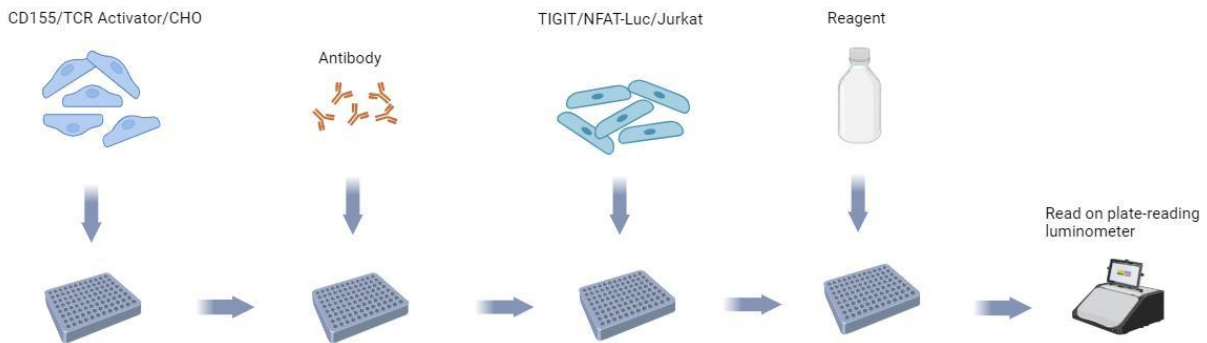


图 3: TIGIT/CD155 Blockade Assay 流程示意图

- 1) 取对数生长的 CD155/TCR Activator/CHO 细胞, 胰酶消化重悬于新鲜的含 10%FBS 的 F12K 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, 100 ul/孔细胞悬液, 37°C 培养箱培养过夜。
- 3) 第二天将接种 CD155/TCR Activator/CHO 细胞的 96 孔板内 F12K 培养基吸干, 另用 10% 血清 RPMI1640 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 (50 ul/孔) 到接种好细胞的 96 孔板中, 样本从最高浓度 60 ug/ml (2*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 TIGIT/NFAT-Luc/Jurkat 细胞离心弃上清，重悬于新鲜的 10% FBS 的 RPMI1640 培养基中将重悬的细胞密度调整为 4×10^5 cells/ml, 然后将细胞加入步骤 3 的 96 孔板中，每孔 50 ul，放置 37°C 培养箱中继续培养 5.5 到 6 小时。
- 5) 将 96 孔板从培养箱中取出，加入 100 ul/孔 Ultra Luciferase Detection Kit, Cat.#CBPH0001 放置 3 到 5 分钟，放入酶标仪中读取数值。
- 6) 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

Dose response of anti-TIGIT neutralizing antibody in TIGIT / NFAT-Reporter Jurkat cell line (C26) with CD155 / TCR activator - CHO

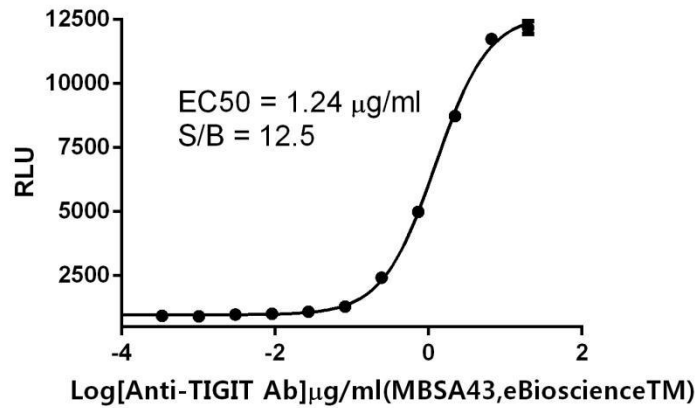


图 5: TIGIT/CD155 Blockade Assay 验证结果 (测试样本: Anti-TIGIT Ab)

8. 相关产品

名称	货号
PD1/TIGIT Dual Effector Reporter Cell	CBP74126
PDL1/CD155/TCR Activator/CHO	CBP74127
TIGIT/NFAT-Luc/Jurkat	CBP74020
CD155/TCR Activator/CHO	CBP74073
CD155/CHO	CBP74067
TIGIT/PVRIG Dual Effector Reporter Cell	CBP74167
CD112/CD155 Dual aAPC Cell	CBP74168