

# HVEM/NF $\kappa$ B-Luc/Jurkat

## CBP74013

# 操作说明书



4008-750-250

## 目录

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

## 1. 背景信息

HVEM 是肿瘤坏死因子受体家族的一员，BTLA/HVEM 的相互作用首次证明了这两个受体家族之间存在信号交叉。在发现 BTLA/HVEM 相互作用之前，HVEM 已经被发现与肿瘤坏死因子配体 LIGHT 和淋巴毒素- $\alpha$  结合。BTLA/HVEM 相互作用产生共抑制信号，HVEM/LIGHT 的相互作用通过 HVEM 产生共刺激信号。

## 2. 产品介绍

科佰生物推出 HVEM/NF $\kappa$ B-Luc/Jurkat 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 HVEM。见图 1 流式验证 HVEM 表达。

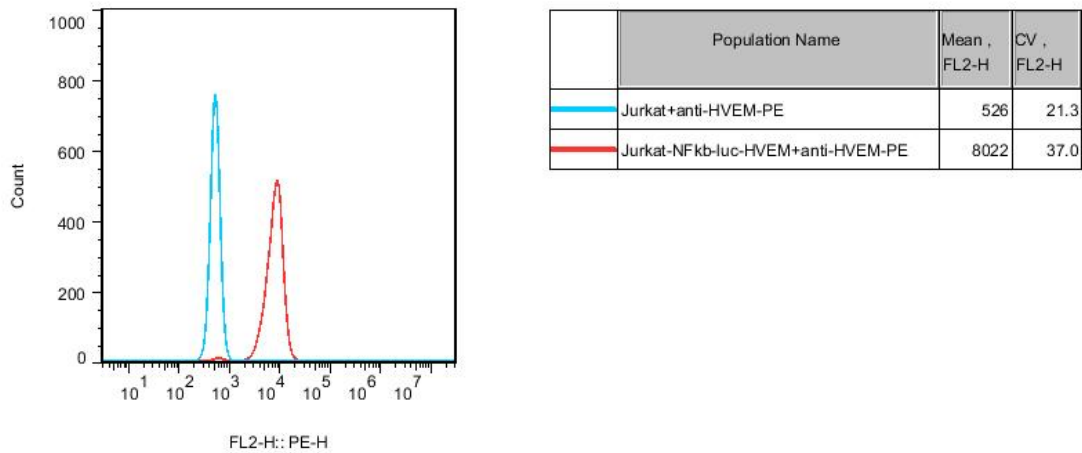


图 1: HVEM/NF $\kappa$ B-Luc/Jurkat 细胞稳定表达人 HVEM

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。

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

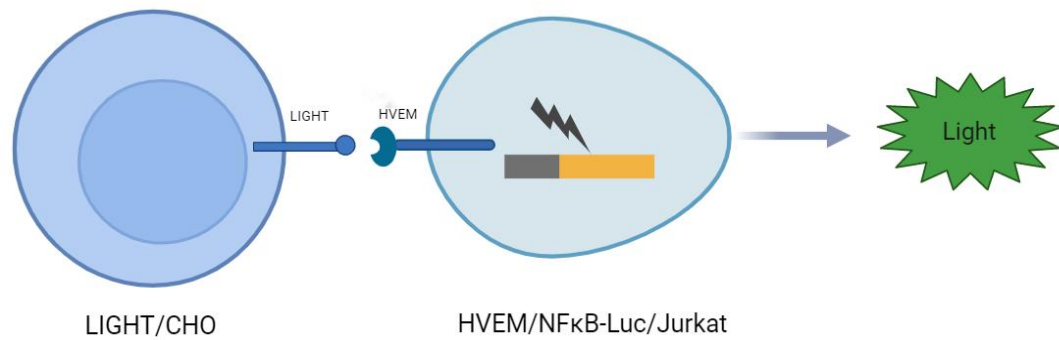


图 2: HVEM/LIGHT 细胞模型原理图

### 3. 细胞基本信息

表达基因: HVEM

传代培养基: RPMI-1640+10%FBS+800ug/ml hygromycin+1ug/ml puromycin

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 HVEM 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
HVEM/NFκB-Luc/Jurkat 完全培养基	Cobioer	CBP74013M
细胞冻存液	Cobioer	CBP50089
LIGHT/CHO 细胞	Cobioer	CBP74029
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 HVEM/NFκB-Luc/Jurkat 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% CO<sub>2</sub> 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  $1 \times 10^6$  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 HVEM/LIGHT Stimulate Assay

HVEM/LIGHT Stimulate Assay 由报告细胞 HVEM/NFκB-Luc/Jurkat, Cat. #CBP74013 细胞和靶细胞 LIGHT/CHO, Cat. #CBP74029 细胞配对开展对本模型的生物功能进行验证。

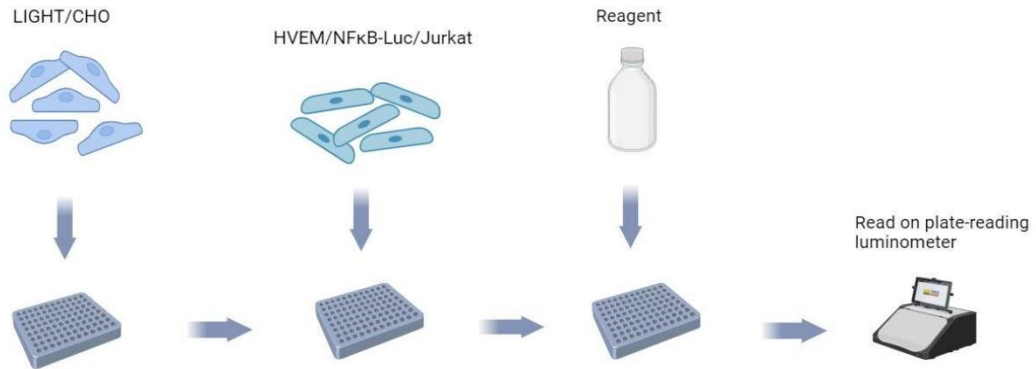


图 3: HVEM/LIGHT Blockade Assay 流程示意图

- 1) 取对数生长的 LIGHT/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为不同密度梯度。
- 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 CD70/CHO 细胞的 96 孔板内 F12K 培养基吸干，取对数期生长的 HVEM/NFκB-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  $4 \times 10^5$  cells/ml，然后将细胞加入步骤 2) 的 96 孔板中，每孔 100 ul，放置 37°C 培养箱中继续培养 5.5 到 6 小时。
- 4) 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。
- 5) 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，并且计算细胞刺激的 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

HVEM/Jukart NFkB-Luc report assay stimulated by LIGHT/CHO cells

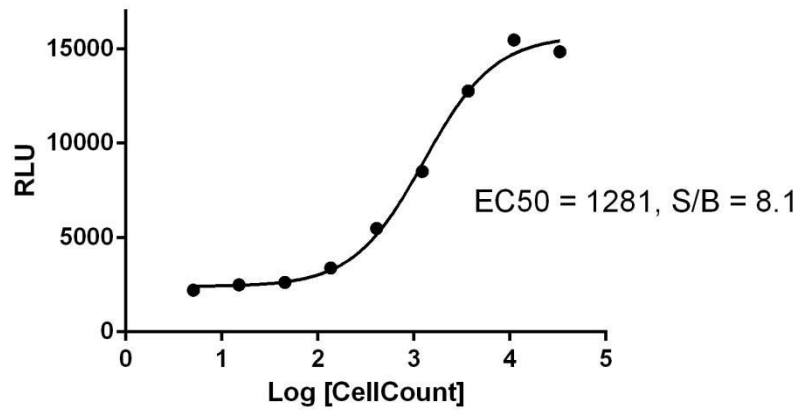


图 5: HVEM/LIGHT stimulate Assay 验证结果

## 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
LIGHT/CHO	CBP74029
FCγR aAPC Cell	CBP74185