

**hIL2/IL15 Dual
Effector(hCD25/hCD122/hC
D132) Reporter Cell
CBP74192
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	4
4. 主要仪器试剂耗材	4
5. 细胞培养	5
5.1 细胞复苏	5
5.2 细胞传代	5
5.3 细胞冻存	5
6. 细胞实验流程	6
6.1 IL2/IL15 Stimulation Assay	6
7. 数据展示	7
8. 相关产品	8

1. 背景信息

白介素-2 (IL-2) 是一种由抗原刺激诱导的 T 细胞生长因子，也是一种多效性细胞因子，在免疫反应中发挥关键性的作用。作为一种细胞毒性 T 细胞和 NK 细胞的强效诱导剂，IL-2 是最早被获批用于治疗转移性黑色素瘤和肾细胞癌症的免疫治疗药物之一。不幸的是，IL-2 免疫疗法由于其体内半衰期短和治疗剂量下的严重毒性，因此获批以后并未得到广泛应用。此外，IL-2 还会通过与 IL-2 受体 α (IL-2Ra) 结合诱导调节性 T 细胞 (Tregs) 增殖，这是由于 IL-2Ra 会优先在 Tregs 上表达，而 Treg 细胞的耗竭已被证明可以增强 IL-2 诱导的抗肿瘤免疫，这表明 Treg 可能是 IL-2 介导的 CTL 扩增的主要障碍。IL-2 通过与各种类型的 IL-2 受体结合而发挥刺激和调节功能，包括单体、二聚体和三聚体 IL-2 受体。某些 T 细胞，如 Tregs，表达由 CD25 (IL-2Ra)、CD122 (IL-2Rb) 和 CD132 (常见的细胞因子受体 γ 链) 亚基组成的高亲和力异源三聚体受体。相反，初始 CD8 T 细胞、CD4/CD8 记忆性 T 细胞和 NK 细胞表达亲和力较低的二聚体受体，该受体缺乏 CD25 亚基。不同类型的 IL-2 受体与 IL-2 之间的亲和力存在明显的差异，当 CD25 (IL-2Ra)、CD122 (IL-2Rb) 和 CD132 (常见的细胞因子受体 γ 链) 形成完整的异源三聚体受体时其结合 IL2 的亲和力最高，而 CD122 (IL-2Rb) 和 CD132 (常见的细胞因子受体 γ 链) 形成的二聚体受体，其亲和则次之，大约只有三聚体的百分之一，而 IL-2 受体 α 亚基 (IL-2RA) 单独存在时，其亲和力最低，并且单独的 IL-2RA 并不传导胞内信号，其中下游信号通路激活必需依赖 β/γ 亚基， α 亚基的主要作用是促进 IL-2 结合。

2. 产品介绍

为了帮助各种改造的偏向性的 IL-2 药物的开发，科佰生物分别开发了 IL-2 受体 $\alpha\beta\gamma$ 的三亚基以及 $\beta\gamma$ 的二亚基报告基因细胞筛选模型。hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell 报告基因细胞，在由调控因子调控并表达报告基因的重组细胞上，稳定表达人 CD25、CD122 和 CD132。见图 1 流式验证 IL2R α 表达。见图 2 流式验证 IL2R β 表达。见图 3 流式验证 IL2R γ 表达。

	Population Name	Mean , FL2-A
	hIL2 / hIL15 Dual Effector(hCD25 / hCD122 / hCD132) Reporter cells+anti-IL2R α	1.78E6
	Control Cell+anti-IL2R α	4056

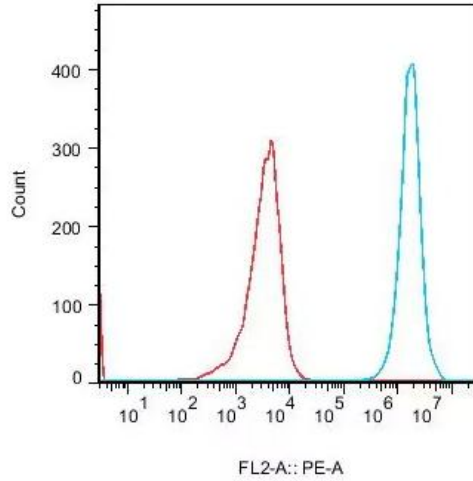




图 1: hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell 细胞稳定表达人 IL2R α 。

	Population Name	Mean , FL4-A
	hIL2 / IL15 Dual Effector(hCD25 / hCD122 / hCD132)Reporter Cells+anti-IL2R β	5.30E4
	Control Cell+anti-IL2R β	908

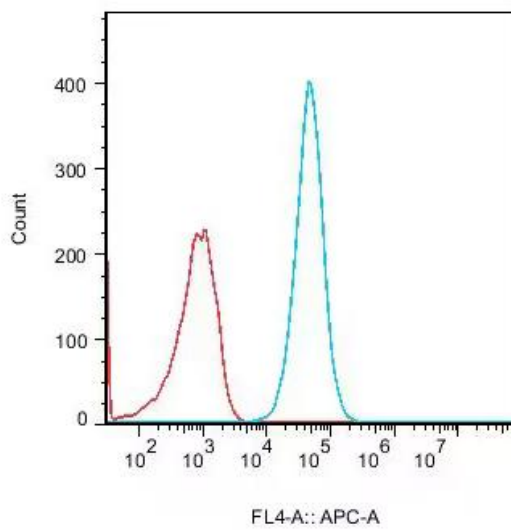




图 2: hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell 细胞稳定表达人 IL2R β 。

	Population Name	Mean , FL4-A
	hIL2 / hIL15 Dual Effector(hCD25 / hCD122 / hCD132)Reporter cell+anti-IL2R γ	1969
	hIL2 / hIL15 Dual Effector(hCD25 / hCD122 / hCD132)Reporter Isotype control	250

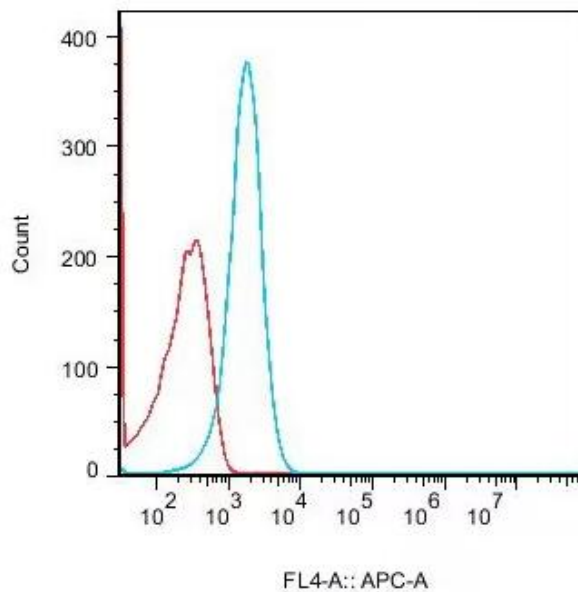


图 3: hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell 细胞稳定表达人 IL2R γ 。

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。

hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell 报告基因药靶模型很好的模拟了体内 hIL2/IL15 的 hCD25/hCD122/hCD132 三亚基的信号转导过程,原理见图 3 所示。

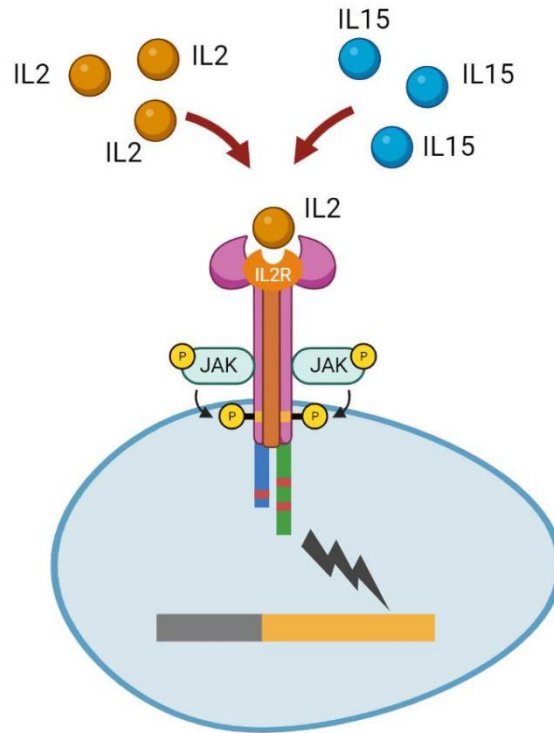


图 3: hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell 细胞模型原理图

3. 细胞基本信息

表达基因: hCD25/hCD122/hCD132

别名: IL2Ra; IL2R α ; IL2RB; ILR2 β ; IL15RB; IL15R β ; IL2 γ ; common γ chain (γ c); IL2RG

传代培养基: RPMI-1640+10%FBS+1ug/ml puromycin+800ug/ml hygromycin+10ug/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 hIL2/IL15 信号传导的激活剂的活性检测, 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
hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132)	Cobioer	CBP74192M

Reporter Cell 完全培养基		
Recombinant hIL2	Cobioer	CBP74014A
Recombinant hIL15	Cobioer	CBP74170A
细胞冻存液	Cobioer	CBP50089
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 hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) 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 IL2/IL15 Stimulation Assay

IL2/IL15 Stimulation Assay 由报告细胞 hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell, Cat. #CBP74192 开展, 本实验中使用 Recombinant hIL2, Cat.#CBP74014A 和 Recombinant hIL15, Cat.#CBP74170A 作为测试样本, 对本模型的生物功能进行验证。

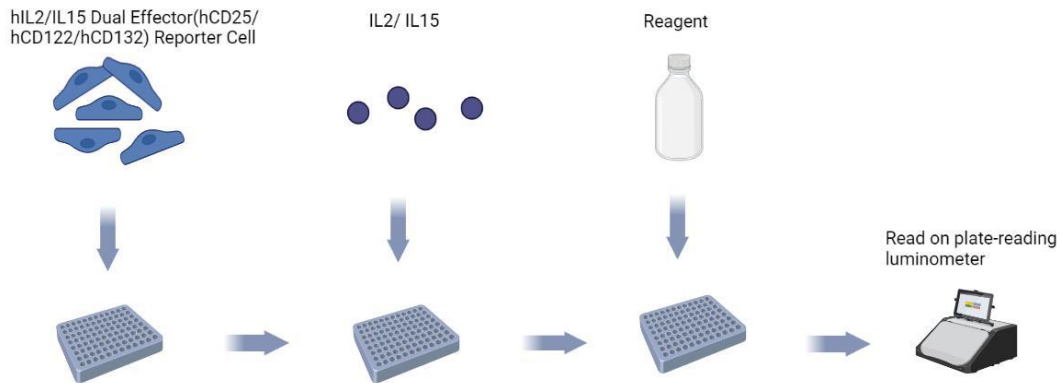


图 4: IL2/IL15 Stimulation Assay 流程示意图

- 1) 取对数期生长的 hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cell 细胞离心去上清, 重悬于新鲜 RPMI1640+10%FBS 培养基中, 细胞密度调整为 5×10^5 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, 100ul/孔细胞悬液。
- 3) 第二天, 用 RPMI1640+10%FBS 培养基对样品进行梯度, 加入梯度稀释的 10^* 浓度样品 (11.1 ul/孔) 到接种好细胞的 96 孔板中, 样品从最高浓度开始, 3 倍稀释 11 个浓度梯度, 每个浓度设置双复孔或三复孔, 并设置 0 浓度对照, 继续在 37°C 细胞培养箱培养 5.5 到 6 小时。(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) 将 96 孔板从培养箱中取出, 加入 100ul/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, 并且计算样品的 EC50。

孔板排布:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照
B	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照
C	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照
D	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照
E	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照
F	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照
G	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照
H	稀释1	稀释2	稀释3	稀释4	稀释5	稀释6	稀释7	稀释8	稀释9	稀释10	稀释11	培养基对照

图 5: 96 孔板排布建议案例展示

7. 数据展示

Dose Response of Recombinant Human IL2/IL15 in hIL2/IL15 Dual Effector(hCD25/hCD122/hCD132) Reporter Cells (C26)

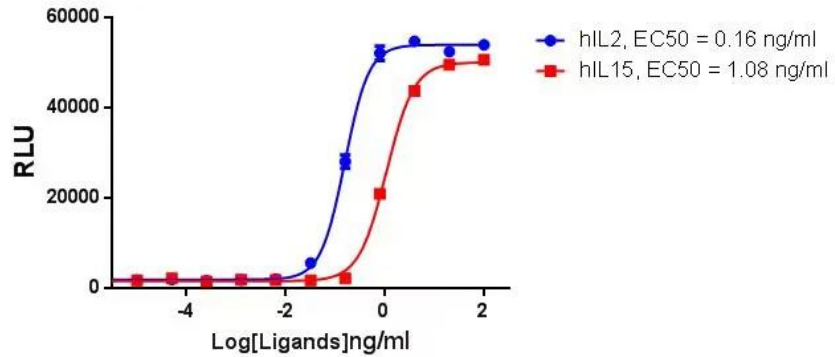


图 6: IL2/IL15 Stimulation Assay 验证结果

8. 相关产品

名称	货号
hIL2/IL15 Dual Effector(hCD122/hCD132) Reporter Cell	CBP74170
hIL2/IL15 Dual Effector (mCD25/hCD122/mCD132) Reporter Cell	CBP74109