

Jurkat Cell Lines for ADCC Bioassays

ADCC 检测用 Jurkat 效应细胞株

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Jurkat Cell Lines for ADCC Bioassays ADCC 检测用 Jurkat 效应细胞株	42001ES03	1mL (5E6 Cell/mL)

产品描述

抗体依赖细胞介导的细胞毒作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 是抗体发挥作用的方式之一, 当 IgG 抗体通过 Fab 段与靶细胞 (病毒感染的细胞及肿瘤细胞) 表面抗原决定簇特异性结合后, 其 Fc 段可与 Fc γ R 的杀伤细胞 (NK 细胞、单核-巨噬细胞、中性粒细胞) 等效应细胞结合, 触发效应细胞的杀伤活性, 直接杀伤靶细胞 (病毒感染的细胞及肿瘤细胞)。

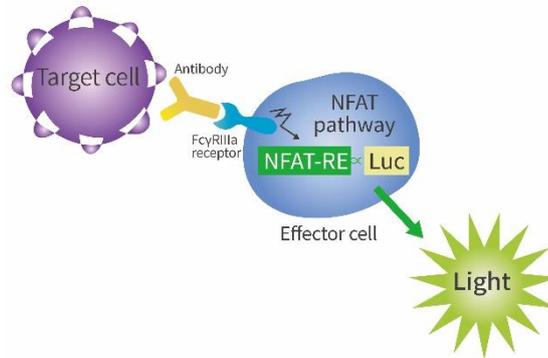


图: 抗体依赖细胞介导的细胞毒作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)

ADCC 检测用 Jurkat 效应细胞株为改造后的 NFAT-Luc-Fc γ RIIIa Jurkat 稳定细胞株 (原始株来源于中科院细胞库), 可由 CD20 抗体, B 细胞淋巴瘤细胞 (Raji、PBMC、WIL2-S 细胞系等) 作为靶细胞来建立 ADCC 生物学活性检测方法。YEASEN 开发的 Jurkat 效应细胞株无菌、无支原体污染, 细胞株为单克隆细胞株, 可用于 ADCC 作用机制验证、糖基化水平检测、抗体筛选等应用。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格
42001	Jurkat Cell Lines for ADCC Bioassays	42001ES03 1mL (5E6 Cell/mL)

运输与保存方法

干冰运输。收到之后如不立即复苏, 请立即转入 -80°C 保存或液氮储存。

产品应用

1) Jurkat 效应细胞株运输与保存

【注】: 细胞株对温度非常敏感, 避免反复冻融。收到产品后, 如果暂时不使用, 请整瓶直接放到 -80°C 冻存或液氮内。

2. Jurkat 细胞株复苏使用特别注意

打开水浴锅, 等待升温达到设置的 37 °C 后, 放入配制好的种子培养基进行预热 30±10 min, 冻存管立即置于 37°C 水浴中解冻 (控制在 3 min 内), 溶解完全即可拿出, 解冻过程中勿使水浴锅水面浸过冻存管管口。此细胞株血清使用要求严格, 检测时使用推荐超低 IgG 胎牛血清。(推荐: 货号: 1921005PG, Gibco)

2) 抗体检测 ADCC

配制细胞: 将 Jurkat 效应细胞、raji 靶细胞株 200 g 或 1000 rpm 离心 5 min 后用 ADCC 缓冲液 (RPMI 1640 培养基+4% 低 IgGFBS) 重悬洗涤一次后, 计数, 调节活细胞密度 (raji 推荐 5E5 Cells/mL; Jurkat 推荐 3E6 Cells/mL) 可进行调试标靶比, Jurkat 效应细胞株密度建议不调整。细胞株活率 >95%。方可进行实验。一般活率在 98-99% 之间。

稀释抗体: 将抗体调节较高浓度成 20 $\mu\text{g/mL}$ 后, 进行梯度稀释, 低浓度时如 3 $\mu\text{g/mL}$ 可按 2-3 倍进行梯度稀释; 高浓度可按 5 倍稀释。先确定细胞的检测抗体浓度范围后, 再进行浓度和梯度稀释比例的调整。

- 1、将 75 μL ADCC Buffer 添加到 96 孔板的最外面的孔中, 封液, 防止蒸发。
- 2、轻轻吹打 raji 细胞悬液, 加入 25 μL 细胞悬液每孔。
- 3、从抗体稀释板中每孔加入 25 μL 抗体稀释系列, 加入到细胞孔内。空白不加抗体, 加入 25 μL ADCC 缓冲液。建议从低浓度到高浓度进行添加。
- 4、轻轻吹打 Jurkat 效应细胞悬液, 然后在实验台上添加 25 μL Jurkat 效应细胞, 则每孔抗体浓度稀释三倍。(母液浓度为 3 $\mu\text{g/mL}$, 则检测起始浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 。)
- 5、用盖子盖住板, 在 37°C 加湿的 CO₂ 中孵育 6 小时。
- 6、从 37°C 的培养箱中取出检测板, 并将其平衡到环境温度(22-25°C), 一般放置 20-30 min 即可。
- 7、使用手动多通道移液管, 添加 75 μL Bio-Glo™ 荧光素酶分析试剂到所有内部 96 孔板; 避免制造任何泡沫。孵育 5 分钟后用酶标仪在白板中读取相对光单位 (relative light units,RLU) 数值, 并按照以反应-阴性作图。

阴性: Jurkat 效应细胞株+靶细胞, 不含抗体, Firefly Glo Luciferase Reporter Gene Assay Kit 检测值

反应: Jurkat 效应细胞株+靶细胞, 含抗体, Firefly Glo Luciferase Reporter Gene Assay Kit 检测值

例: TECAN Spark 酶标仪检测设置: Luminescence, 360-700 nm, 实验检测时间设为 10000 m sec; settle time: 1 sec;

SpectraMax M5 酶标仪检测使用设置: Luminescence, All nm, 实验检测时间设为 500-1000m sec; settle time: 1 sec。

3) 实验结果

①抗体检测:

TECAN Spark 酶标仪检测设置: Luminescence, 360-700 nm, 实验检测时间设为 10000 m sec; settle time: 1 sec;

使用 3 $\mu\text{g/mL}$ 母液抗体浓度, 按 2.5 倍稀释, 稀释 13 倍; 抗体为: Rituximab, E:T=6:1

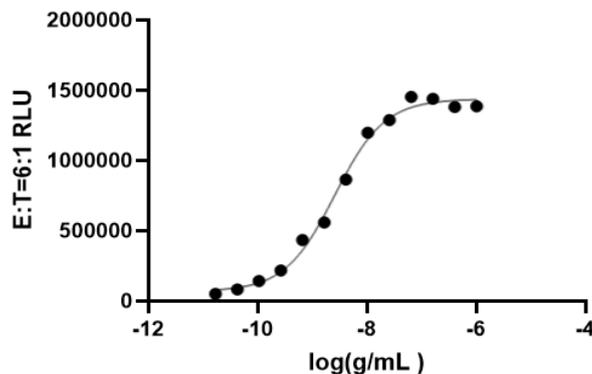


图: 检测值比较明显值在(log -10 至-6 的区间内)

注意事项

- 1、反应温度: 酶促反应对温度较为敏感, 加样检测前务必将所有试剂平衡至室温 (20-25°C) 再使用。
- 2、Firefly Glo Luciferase Reporter Gene Assay Kit 应在环境温度不超过 27°C 使用, 使用时解冻后继续在室温下孵育 20-30 分钟, 和 96 孔白板温度保持一致。
- 3、检测仪器: 能检测化学发光的仪器都适用, 但由于不同仪器的设置检测时间段和灵敏度不同, 测得的光信号值也会不同。
- 4、检测板: 为防止孔间干扰, 推荐使用不透光白色酶标板。
- 5、本产品仅作科研用途, 禁止应用于人体。
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。