Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

产品手册

H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat Cell Line

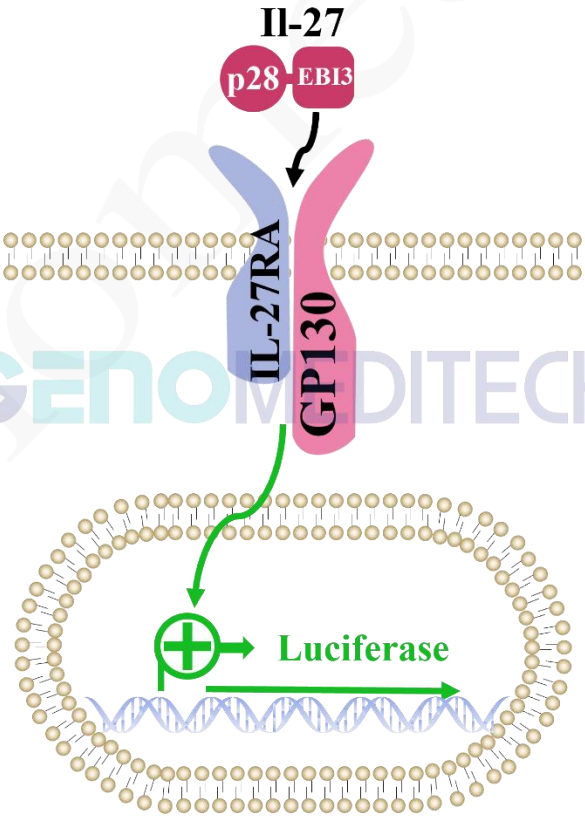
货号: GM-C47171

版本号：4.0.26.1113

IL-27 是由 EB 病毒诱导基因-3 （EBI3） 亚基和 p28 亚基组成的异二聚体，它们分别与 p40 和 p35 相关。IL-27 结合一种称为 WSX-1/TCCR（IL-27RA）的独特受体亚基，该亚基与 IL-6 细胞因子家族使用的常见信号传导亚基 gp130 相关。IL-27RA 在 T 细胞和 NK 细胞上高表达。IL-27 结合受体导致 JAK 的激活，然后激活 STAT 1-5。

IL-27 由活化的 DC、巨噬细胞和小胶质细胞产生，根据细胞环境的不同，表现出促炎和抗炎作用。在促炎方面，IL-27 通过诱导转录因子 T-bet 的表达促进 T 细胞分化为 Th1 谱系。此外，IL-27 抑制 Th2 细胞的分化，从而抑制 Th2 细胞因子如 IL-4、-5 和-10 的分泌。在抗炎方面，IL-27 抑制 Th17 细胞分化和 IL-17A 的分泌。此外，IL-27 还诱导抗炎细胞因子 IL-10 的产生。

吉满生物 H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat Cell Line 报告基因细胞系，是一种 Luciferase 报告基因细胞系。当 IL-27 与受体结合时，激活下游信号通路，从而导致荧光素酶（Luciferase）的表达。Luciferase 读值即代表信号通路的激活效果，因此可用于 IL-27 相关药物的体外效果评价。



本公司产品仅供科研用途，严禁用于人体治疗！

规格参数

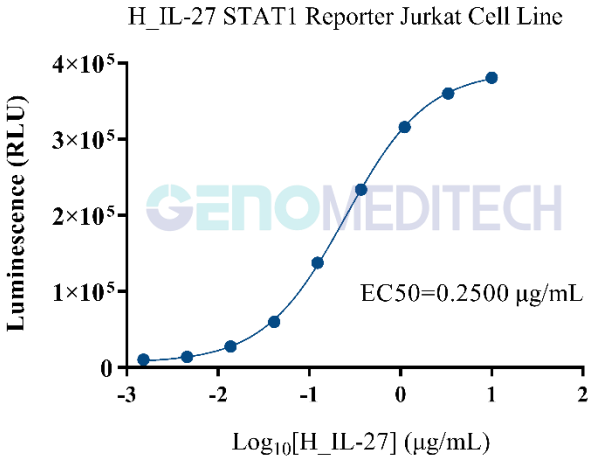
数量	5E6 Cells per vial,1 mL
产品形式	1 支冻存细胞
储运条件	干冰运输，－196°C 以下长期储存
复苏培养基	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S
生长培养基	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S+400 μg/mL Bleomycin+3.5 μg/mL Blasticidin+200 μg/mL Hygromycin+0.75 μg/mL Puromycin
培养备注	无
细胞冻存液	90% FBS+10% DMSO
生长特性	悬浮
培养条件	37°C, 5% CO_2
支原体检测	该细胞系已通过支原体检测，结果为阴性。
生物安全等级	Biosafety Level 2
备注	建议尽早扩增该细胞，并冻存至少 10 支，以便后续使用。

实验材料与仪器

名称	**Manufacturer/Catalogue No.**
RPMI 1640	gibco/C11875500BT
Fetal Bovine Serum	ExCell/FSP500
Pen/Strep	Thermo/15140-122
Blasticidin	Genomeditech/GM-040404
Bleomycin	Genomeditech/GM-040407
Hygromycin	Genomeditech/GM-040403
Puromycin	Genomeditech/GM-040401
Human IL-27 protein	MCE/HY-P73199
IL-27R alpha/WSX-1/TCCR Antibody	novus/MAB1479-SP
GMOne-Step 2.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit	Genomeditech/GM-040513
Countess 3 Automated Cell Counter	ThermoFisher/A49891
NovoCyte Flow Cytometer	Agilent/NovoCyte 2060R
SpectraMax® L Microplate Luminometer	Moleculardevices/SpectraMax L
96 well round cell culture plate	PakGent/CL-PT096
96-well White Opaque Plate	Thermo/236108
96-well U-bottom Plate	Saining/1014010

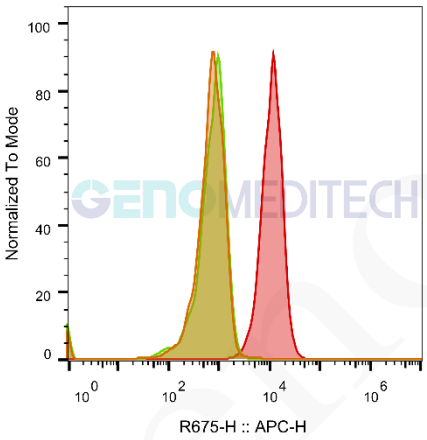
验证结果

信号通路



Human IL-27 Protein 激活验证。H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat 细胞系（GM-C47171）按 5E4 细胞/孔接种于 96 孔板，加入梯度稀释的 Human IL-27 protein (MCE/HY-P73199)，于 assay buffer（RPMI 1640+1% FBS+1% P.S）中孵育 6 小时后，采用 Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech) 检测萤火虫荧光素酶活性，最大诱导倍数约为 [46.5]，数据以药物质量浓度表示。[protocol]

表达



	SampleID	Geometric Mean : R675-H
	Jurkat anti-IL-27R alpha+APC-2nd Ab	631
	H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat M_IgG+APC-2nd Ab	633
	H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat anti-IL-27R alpha+APC-2nd Ab	10914

IL-27R alpha 流式表达验证。采用流式细胞术，用 IL-27R alpha/WSX-1/TCCR Antibody (Novus/MAB1479-SP)检测 H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat 细胞系（GM-C47171）的 IL-27R alpha 表达。

细胞复苏

复苏培养基：RPMI 1640+10% FBS+1% P.S

为确保最高存活率，应在收到冻存细胞后立即解冻并复苏培养。如果在收到细胞后需要继续储存，将其置于液氮罐中，严禁储存在-70° C，因为在-70° C 下储存会导致活性丧失。

a) 37℃水浴锅预热复苏培养基，加入预热后的复苏培养基 5 mL 至 15 mL 离心管。

b) 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37℃恒温水浴锅，将细胞液面浸至水面以下轻轻摇动解冻，直到刚刚融化（通常 2-3 分钟）。

c) 用 70%乙醇擦拭冻存管外部以降低污染的几率。在生物安全柜或超净台中将冻存管中的细胞悬液转移到步骤 a）的离心管中，轻轻混匀，176 × g，离心 3 min，使细胞沉淀，弃上清。

d) 使用 1 mL 复苏培养基重悬，可取出部分使用台盼蓝染色计数活细胞，细胞≥ 3E6 cells/mL。

e) 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 4-6E5 cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞悬液接种至 1-2 个 T25 中（3-5 mL 悬液），竖瓶培养。

细胞冻存

细胞冻存液：90% FBS+10% DMSO

a) 使用 176 × g，3 min 离心收集细胞。

b) 使用预冷细胞冻存液（90% FBS + 10% DMSO）重悬细胞，细胞密度调整为 5E6 cells/mL，每管 1 mL 分装到细胞冻存管中。

c) 拧紧盖子，适当标记后，将冻存管置于梯度降温盒中，-80℃下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

细胞传代

生长培养基： RPMI 1640+10% FBS+1% P.S+400 μg/mL Bleomycin+3.5 μg/mL Blasticidin+200 μg/mL Hygromycin+0.75 μg/mL Puromycin

首次复苏后，约 48-72 h 可进行第一次传代，此次传代后细胞培养基可调整为添加抗生素的生长培养基。若 48 h 未传代，建议适当补加复苏培养基，瓶体改为横向放置。

a) 细胞为淋巴细胞状，悬浮生长。

b) 当细胞密度达到 1.5-2E6 cells/mL，1 传 3，隔 2-3 天继续传代，不要让其密度超 2E6 cells/mL，推荐使用 T25 瓶进行传代培养。

c) 该细胞为悬浮细胞，传代时推荐使用【半换液法】对细胞状态较为有利。传代时可以直接向培养瓶中添加生长培养基，然后将细胞吹打均匀后移入新的 T25 培养瓶中继续培养。

细胞传代比例为 1:3，2-3 天传代。

培养备注

a) 该细胞对密度较为敏感，培养、传代时请注意保持细胞密度在合适的范围。

b) 首次传代时注意营养，不处理时务必隔天适当补加复苏培养基。

实验方案

激活验证实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞量为 5 × 10^4 cells/孔。本次实验使用 IL-27 protein,Human (CHO, His) (56 kDa)（以下简称为 IL-27）作为阳性药物， Conc.01 终浓度为 10 μg/mL，3 倍梯度稀释，Conc.01-Conc.09 分别排布在 B2-B10，B11 为 0 浓度对照。周围孔加入 100 μL PBS，以防止

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
B	IL-27	PBS	10 μg/mL	3.33 μg/mL	1.11 μg/mL	370.37 ng/mL	123.46 ng/mL	41.15 ng/mL	13.72 ng/mL	4.57 ng/mL	1.52 ng/mL	0	PBS
C		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D													
E													
F													
G													
H													

边孔蒸发。

加样步骤

a) 实验前 1-2 h，离心收集 H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat Cell Line，以 Assay Buffer 重悬细胞，检测细胞活力并计数，调整细胞浓度至 1 × 10^6 cells/mL。

b) 使用 1 个无菌 96 孔板准备药物稀释。

c) 每个待测药物，使用一行。(如 B2-B11)

d) 准备母液

药物名称	储液	母液	配置方法
IL-27	0.5 mg/mL	/	直接使用储液

e) 96 孔板中，加入 Assay Buffer，各孔体积见下表，如 B2 孔加入 90 μL Assay Buffer，B3-B11 孔，加入 60 μL Assay Buffer。

f) 吸取不同体积的待测样品母液，加入到第一个梯度稀释孔中（如 B2 中加入 3.75 μL IL-27），混匀。

	母液吸取		梯度稀释孔，依次从前孔吸取 30 μL，加入次孔									对照组	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A													
B	3.75 μL IL-27	加入	90 μL	60 μL	60 μL	60 μL	60 μL	60 μL	60 μL	60 μL	60 μL	60 μL	
C													
D													
E													
F													
G													
H													

g) 从第一个梯度稀释孔 B2 中吸取 30 μL，加入到第二个梯度稀释孔 B3，充分混匀。

h) 以此类推，直至第 9 个梯度稀释孔（B10）。

i) 准备 96 孔板，根据孔板布局，加入步骤 a 准备好的 H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat Cell Line 细胞，50 μL 每孔。

j) 加入梯度稀释好的药物，50 μL 每孔。

k) 盖上板盖，于 37℃ CO_2 培养箱中培养 6 h。

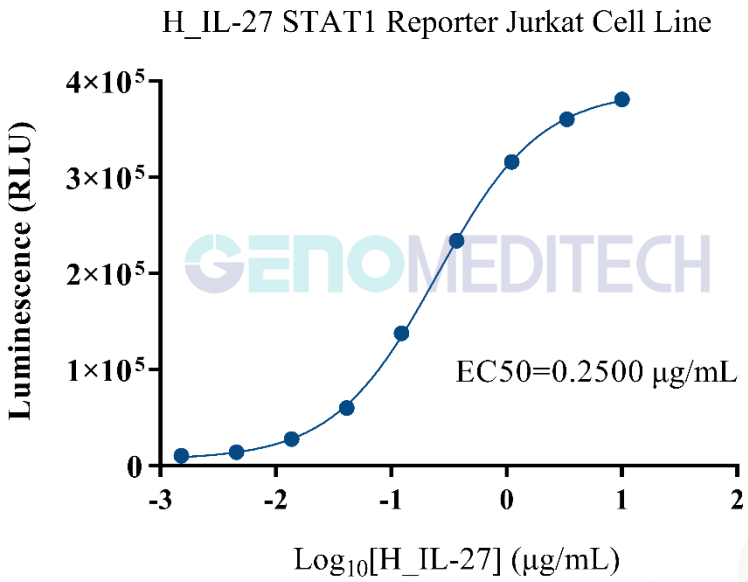
l) 使用报告基因检测试剂盒，检测 Luciferase。

报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_IL-27 STAT1 Reporter Jurkat Cell Line	0 ng/mL	10 μg/mL	1.52 ng/mL
	8183	380738	10159

验证结果



相关产品

IL-27	
H_IL-27 Reporter 293 Cell Line	H_IL-27R CHO-K1 Cell Line
H_IL-27R HEK-293 Cell Line	

使用许可协议

凡购买及使用本细胞系产品，即表明使用者自愿接受并遵守以下相关使用政策：

- 本细胞系产品限于科研用途，不得被利用于任何商业用途。
- 本产品严禁用于人类或动物疾病诊治，也不得直接用于人体相关实验。
- 用户及为其利益服务的第三方承包商仅可在约定科研范围内使用本材料及其子代，不得进行修饰，亦不得向任何其他实体（包括关联机构）分发、销售、转让或以其他方式提供吉满生物材料。
- 如需将本产品用于本声明范围以外的用途，须事先获得吉满生物科技（上海）有限公司的书面许可，详情请联系吉满生物科技（上海）有限公司。