

产品手册

H_IL11 Reporter DDX35™ 293 Cell Line

H_IL11 Reporter DDX35™ 293 细胞系

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V2.12.2

目录

一、	产品基本信息及组分.....	3
二、	包装、运输及储存.....	3
三、	产品描述.....	4
四、	传代稳定性.....	5
1.	功能验证结果.....	5
2.	流式验证结果.....	6
五、	材料准备.....	7
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	7
2.	试剂耗材准备.....	7
六、	细胞复苏、传代、冻存.....	8
1.	细胞复苏.....	8
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）.....	8
3.	细胞冻存.....	8
七、	使用方法（示例）.....	9
1.	Assay 验证实验.....	9
1)	加样步骤.....	9
2)	报告基因检测.....	10
3)	验证结果.....	10
2.	Block 抗体抑制实验.....	11
1)	加样步骤.....	11
2)	报告基因检测.....	12
3)	验证结果.....	13
	相关产品.....	13
	使用许可协议：.....	13

一、 产品基本信息及组分

基本信息

产品编号	产品名称	规格
GM-C40337	H_IL11 Reporter DDX35™ 293 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C40337	H_IL11 Reporter DDX35™ 293 Cell Line	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C

二、 包装、运输及储存

1. 细胞系产品干冰运输，-196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
2. 接触产品请带手套。请收到产品立即确认产品是否为冻存状态，-196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
3. 本产品相关 Assay，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、 产品描述

白细胞介素-11(IL-11)是一种重要的造血细胞因子。在中枢神经系统和胃肠道中表达。IL-11 的造血作用包括原始干细胞的刺激和增殖。它与其他细胞因子协同作用，以支持造血干细胞所有谱系的增殖和分化。此外，在急性和慢性炎症的动物模型中发现 IL-11 与抗炎和粘膜保护作用有关，例如粘膜炎，炎症性肠病，关节炎和自身免疫性关节炎病。

IL-11 通过与 IL-11 受体- α (IL-11R α) 和 gp130 的复合物结合来发出信号。IL-11R α 与 IL-6 受体家族的其他成员相似，由 IL-11 特异性 α 链组成，gp130 亚基是 β 链亚基的常见受体。IL-11 与 IL-11R α 受体的结合触发 gp130 亚基的同源二聚化和 IL-11 受体复合物的形成。通过 gp130 受体传导信号并通过 JAK/STAT 途径启动下游基因转录。

吉满生物 H_IL11 Reporter DDX35™ 293 Cell Line 报告基因细胞系，专为高效评价 IL-11 及其相关药物的体外活性而设计。当 IL-11 结合 IL-11R α 、GP130 受体后，激活信号通路，从而激活荧光素酶 (Luciferase) 的表达。Luciferase 读值即代表信号通路的激活效果。通过检测 Luciferase 活性，即可直接反映信号通路的激活程度，实现药物效果的灵敏定量分析。该细胞系经多轮单克隆筛选，兼具高稳定性、高灵敏度与高信噪比，适用于批量建库、药物放行检测及标准化实验流程。

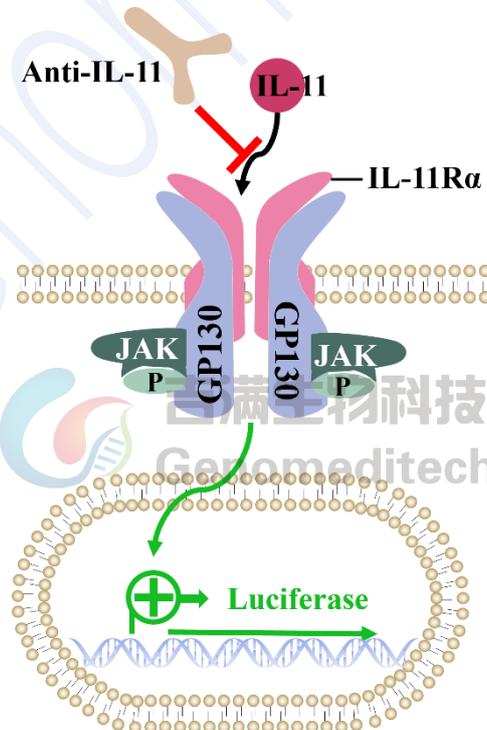


Fig 1. 信号通路图

四、 传代稳定性

1. 功能验证结果

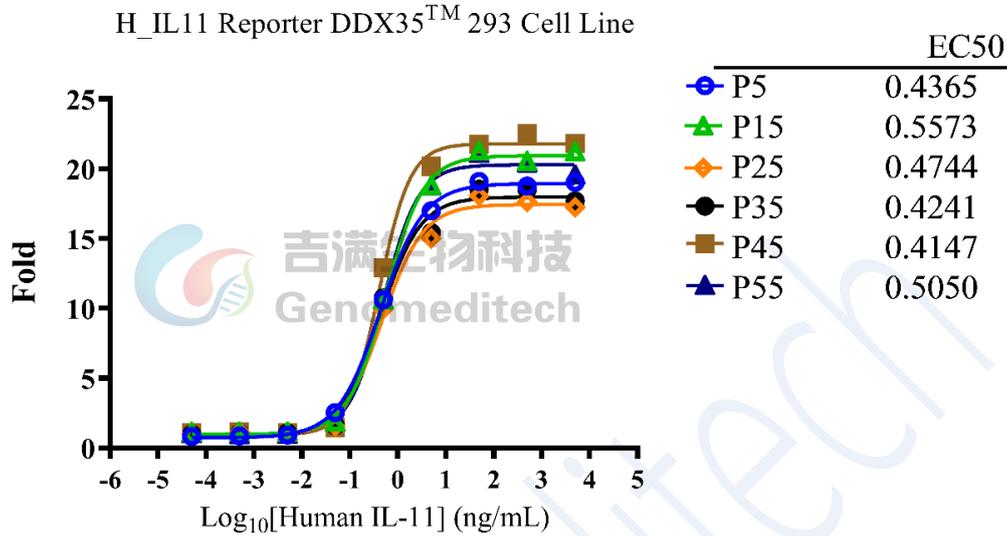


Fig 2. 制备 Human IL-11 Protein; His Tag (Genomeditech/# GM-87734RP) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 配置 H_IL11 Reporter DDX35TM 293 Cell Line (Genomeditech/# GM-C40337), 每孔细胞量 1.5×10^4 个。将过夜培养的细胞吸弃上清, 加入稀释好的 Human IL-11 Protein, 孵育 6 h 后检测 Luciferase 数值, 使用 GraphPad 系统进行数据分析, 纵坐标转换为倍率。结果显示, 不同代次间倍率、EC50 数值稳定。

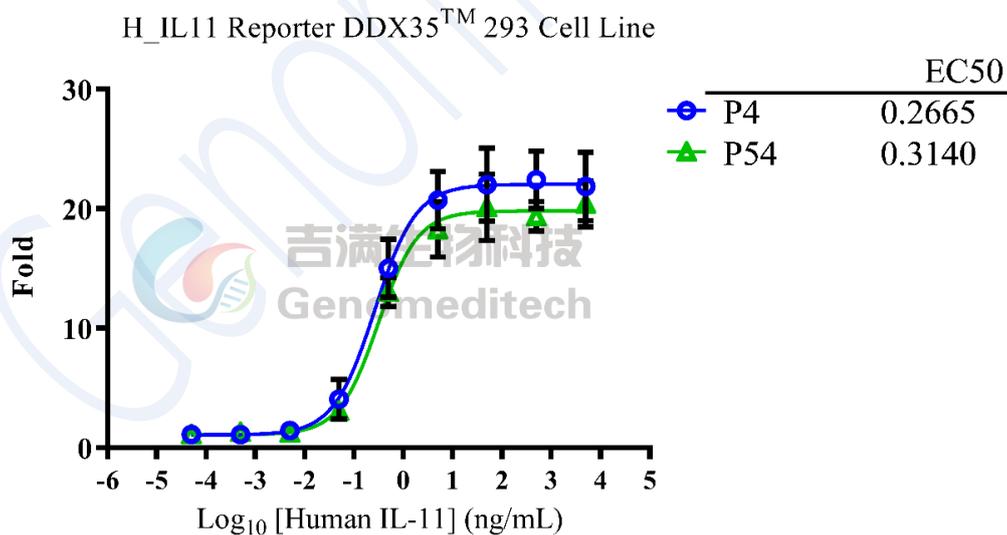


Fig 3. 制备 Human IL-11 Protein; His Tag (Genomeditech/# GM-87734RP) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 配置 H_IL11 Reporter DDX35TM 293 Cell Line (Genomeditech/# GM-C40337), 每孔细胞量 1.5×10^4 个。将过夜培养的细胞吸弃上清, 加入稀释好的 Human IL-11 Protein, 3 复孔, 孵育 6 h 后检测 Luciferase 数值, 使用 GraphPad 系统进行数据分析, 纵坐标转换为倍率。结果显示, P4 代与 P54 代倍率、EC50 数值稳定。

2. 流式验证结果

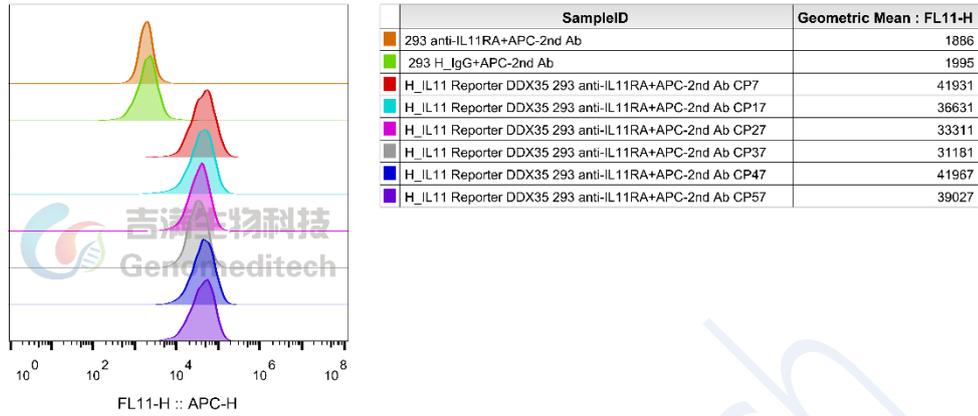


Fig 4.使用 Anti-IL-11RA hIgG1 Antibody(58B10-9C3-4E5) (Genomeditech/GM-57287AB)流式验证结果

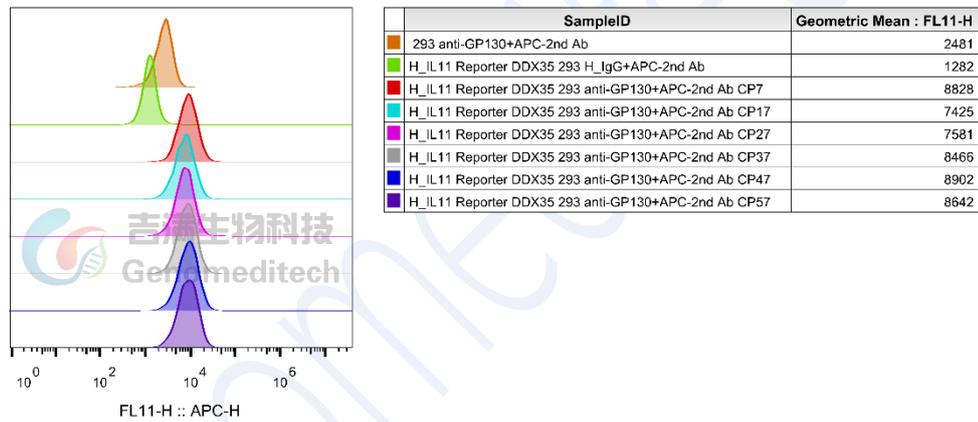


Fig 5.使用 IL6ST/GP130/CD130 Antibody,mouse MAB (Sino biological/10974-MM11)流式验证结果

五、 材料准备

1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基:	DMEM+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	DMEM+10% FBS+1% P.S+4 $\mu\text{g/mL}$ Blasticidin+400 $\mu\text{g/mL}$ G418+125 $\mu\text{g/mL}$ Hygromycin
细胞冻存液:	90% FBS+10% DMSO
Assay Buffer:	DMEM+1% FBS+1% P.S

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
DMEM	500 mL	gibco/C11995500BT
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Blasticidin	10 mg	Genomeditech/GM-040404-1
G418	1g	Genomeditech/GM-040402-1
Hygromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040403-1
96 Well Clear V-Bottom Tissue Culture	96-well	Corning/3894
96 well round well culture plate	96-well	NEST/701001
96 well White Flat Bottom Polystyrene Not Treated Microplate	96-well	Corning/3912
Human IL-11 Protein; His Tag	/	Genomeditech/GM-87734RP
Anti-IL-11 hIgG4 Antibody(Hu16E12)	/	Genomeditech/GM-57288AB
Anti-IL-11RA hIgG1 Antibody(58B10-9C3-4E5)	/	Genomeditech/GM-57287AB
Anti-gp130/IL6ST Antibody (PE), Mouse Monoclonal	25 Tests	SinoBiological/10974-MM11-P
GMOne-Step 2.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit	1000T	Genomeditech/GM-040513C

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
酶标仪	Moleculardevices/SpectraMax L

六、 细胞复苏、传代、冻存

1. 细胞复苏

注：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。

- 37 $^{\circ}\text{C}$ 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。
- 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 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）。
- 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 \times g，离心 5 min，使细胞沉淀，弃上清。
- 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，活细胞 $\geq 3 \times 10^6$ cells/mL。
- 通过补充复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 $2-3 \times 10^5$ cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。

3. 细胞冻存

- 使用 176 \times g，3 min 离心收集细胞。
- 使用预冷细胞冻存液（90% FBS + 10% DMSO）重悬细胞，细胞密度调整为 5×10^6 cells/mL，每管 1 mL 分装到细胞冻存管中。
- 拧紧盖子，适当标记后，将冻存管置于梯度降温盒中， -80°C 下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

2. 细胞传代（以 10 cm 皿为例）

注：细胞复苏后的 1 至 2 代，使用复苏培养基，待细胞状态稳定后，再更换为含有抗生素的生长培养基。

- 细胞为上皮细胞，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况，当细胞密度达到 80%，需要进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:3-1:4，2-3 天传代。注意保持密度不超过 80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。
- 将皿或培养瓶中的培养液弃去，10 cm 皿加 2 mL PBS 润洗 1 次。
- 弃 PBS，加 1 mL 0.25% Trypsin-EDTA 消化液，37 $^{\circ}\text{C}$ 消化 30-60 s，显微镜下观察。
- 待细胞变圆，细胞间隙明显，部分细胞刚开始脱离瓶壁时，加 2 mL 左右生长培养基混匀终止消化，将细胞小心吹打下来，176 \times g 室温离心 3 min。
- 弃上清，细胞沉淀用生长培养基重悬，根据传代前细胞密度分盘（根据培养皿面积和细胞密度计算，传代后细胞密度为 30-40%）。

注意事项：

- 细胞刚复苏，死细胞较多，属于正常现象，经调整会有明显好转，状态稳定后，传代后死细胞会变少，细胞生长速度趋于稳定。
- 注意保持密度不超过 80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。
- FBS 需 56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 分钟，可热灭活补体和部分病毒，但不显著影响大多数生长因子和细胞因子活性。

七、 使用方法（示例）

1. Assay 验证实验

操作步骤可根据示例调整优化，对于本次实验，推荐 H_IL11 Reporter DDX35™ 293 Cell Line 细胞量为 1.5×10^4 cells/孔。本次实验使用 Human IL-11 Protein; His Tag (20.3 kDa; 以下简称 Human IL-11) 作为阳性药物，Conc.01 浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，10 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，以防止边孔蒸发。

孔板布局：

	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	Human IL-11	5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$	500.00 ng/mL	50.00 ng/mL	5.00 ng/mL	500.00 pg/mL	50.00 pg/mL	5.00 pg/mL	500.00 fg/mL	50.00 fg/mL	0	PBS
C	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D												
E												
F												
G												
H												

1) 加样步骤

- 在实验前 16-24 h，将细胞从培养瓶中取出，消化离心收集细胞沉淀，使用适量完全培养基重悬细胞，检测细胞活力并计数，再以完全培养基调整细胞浓度为 1.5×10^5 cells/mL。以排枪加 100 μL 细胞/孔至中间孔。周围的孔加 100 μL PBS。盖板上盖，于孵箱中孵育过夜使用。
- 使用 1 个无菌 96 孔 V 底板准备药物稀释。
- 每个待测抗体，使用一行（如 B2-B10）。
- 母液准备

药物名称	储液	母液	配置方法
Human IL-11	1 mg/mL	0.1 mg/mL	取 2 μL 储液+18 μL Assay Buffer

- 96 孔 V 底板中，加入 Assay Buffer，各孔体积见下表，如 B2 孔加入 133.3 μL Assay Buffer，B3-B11 孔，加入 120 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 7.02 μL Human IL-11），混匀。

母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 13.33 μL ，加入次孔										对照组	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7.02 μL Human IL-11	加入	133.3 μL	120 μL									

- g) 从第一个稀释孔 B2 中吸取 13.33 μL ，加入到第二个稀释孔 B3，充分混匀。
- h) 以此类推，直至第 9 个梯度稀释孔（B10）。
- i) 将步骤 a 孵育过夜的孔板取出，吸弃上清。
- j) 加入梯度稀释好的药物，100 μL 每孔。
- k) 盖上班盖，于 37 $^{\circ}\text{C}$ 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。

2) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_IL11 Reporter DDX35 TM 293 Cell Line	0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$	50.00 fg/mL
	31178	598537	32203

3) 验证结果

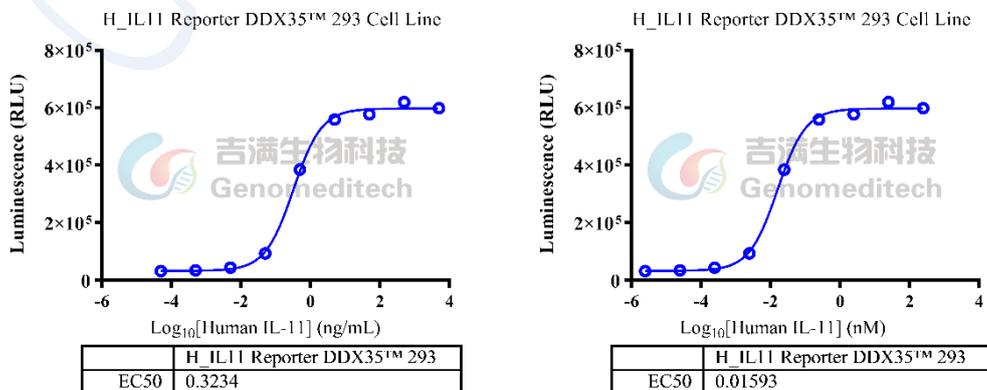


Fig 6.验证结果（右图对药物进行质量浓度和摩尔浓度的换算后绘制）

2. Block 抗体抑制实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 H_IL11 Reporter DDX35™ 293 Cell Line 细胞量为 1.5×10^4 cells/孔。本次实验使用 Human IL-11 Protein; His Tag (以下简称 Human IL-11) 作为激活药物(激活浓度使用 1 ng/mL)，Anti-Anti-IL-11 hIgG4 Antibody(Hu16E12)作为 block 抗体(150 kDa; 以下简称为 Anti-IL-11)。Conc.01 终浓度为 5 μ g/mL, 5 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 μ L PBS, 以防止边孔蒸发。抗体浓度及孔板排布如下:

	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	Anti-IL-11	5.00 μ g/mL	1.00 μ g/mL	200.00 ng/mL	40.00 ng/mL	8.00 ng/mL	1.60 ng/mL	320.00 pg/mL	64.00 pg/mL	12.80 pg/mL	0	PBS
C	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D												
E												
F												
G												
H												

1) 加样步骤

- 在实验前 16-24 h, 将细胞从培养瓶中取出, 消化离心收集细胞沉淀, 使用适量完全培养基重悬细胞, 检测细胞活力并计数, 再以完全培养基调整细胞浓度为 1.5×10^5 cells/mL。以排枪加 100 μ L 细胞/孔至中间孔。周围的孔加 100 μ L PBS。盖上板盖, 于孵箱中孵育过夜使用。
- 使用 1 个无菌 96 孔 V 底板准备药物稀释。
- 每个待测抗体, 使用一行(如 B2-B10)。
- 准备母液

药物名称	储液	母液	配置方法
Anti-IL-11	3.69 mg/mL	0.369 mg/mL	取 2 μ L 储液 + 18 μ L Assay Buffer
Human IL-11	1 mg/mL	1 μ g/mL	取 2 μ L 储液 + 1998 μ L Assay Buffer

- 96 孔 V 底板中, 加入 Assay Buffer, 各孔体积见下表, 如 B2 孔加入 75 μ L Assay Buffer, B3-B11 孔, 加入 60 μ L Assay Buffer。
- 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 2.09 μ L

Anti-IL-11)，混匀。

母液吸取		梯度稀释孔，依次从前孔吸取 15 μ L，加入次孔										对照组	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A													
B	2.09 μ L Anti-IL-11	加入	75 μ L	60 μ L									
C													
D													
E													
F													
G													
H													

- g) 从第一个梯度稀释孔 B2 中吸取 15 μ L，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) 配置 2 \times 激活剂，2 ng/mL Human IL11 (2.41 μ L 1 μ g/mL Human IL11 母液加入到 1201.2 μ L Assay Buffer 中，混匀后使用)。
- j) 将配置好的激活剂加入梯度稀释的抗体中，每孔加入 55 μ L 混匀，盖上盖板放入培养箱孵育 1 h。
- k) 1 h 后将步骤 a 孵育过夜的细胞孔板取出，每孔吸弃 100 μ L 上清。加入步骤 j 孵育好的混合溶液，100 μ L 每孔。
- l) 盖上报板盖，于 37 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱中培养 6 h。
- m) 使用报告基因检测试剂盒，检测 Luciferase。

2) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_IL11 Reporter DDX35™ 293 Cell Line	1 ng/mL Human IL11+0 μ g/mL Anti-IL-11	1 ng/mL Human IL11+5 μ g/mL Anti-IL-11	1 ng/mL Human IL11+ 12.8 pg/mL Anti-IL-11
	554789	64084	516856

3) 验证结果

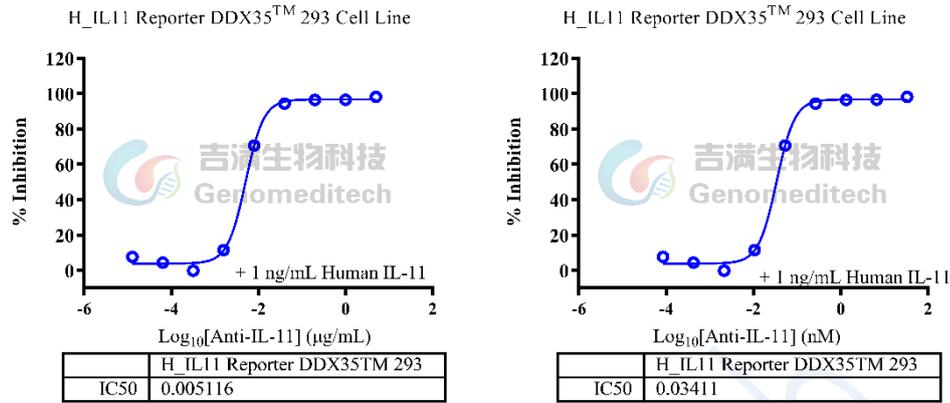


Fig 3. 抑制结果

(右图对抗体进行质量浓度和摩尔浓度的换算后绘制)

相关产品

IL-11	
H_IL11 Reporter DDX35 TM 293 Cell Line	
Anti-IL-11 hIgG4 Antibody(Hu16E12)	
Anti-IL-11RA hIgG1 Antibody(58B10-9C3-4E5)	
Biotinylated Human IL-11 Protein; His-Avi Flag Tag	Human IL-11 Protein; His Tag

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。
- 用户及其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。