

## 产品手册

### H\_CD28 KO Jurkat Cell Line

### H\_CD28 KO Jurkat 细胞系

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V2.12.1

## 目录

一、	产品基本信息及组分.....	3
二、	包装、运输及储存.....	3
三、	材料准备.....	3
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	3
2.	试剂耗材准备.....	3
四、	细胞复苏、传代、冻存.....	4
1.	细胞复苏.....	4
2.	细胞传代.....	4
3.	细胞冻存.....	4
五、	验证结果.....	5
1.	流式检测蛋白表达.....	5
附录 1	Sanger 测序结果.....	6
使用许可协议:	.....	7

## 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-C37924	H_CD28 KO Jurkat Cell Line	5E6 Cells/mL

### 组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C37924	H_CD28 KO Jurkat 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. 本产品相关实验，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

## 三、材料准备

### 1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基:	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	RPMI 1640+10% FBS+1% P.S+3.5 µg/mL Blasticidin+0.75 µg/mL Puromycin
细胞冻存液:	90% FBS+10% DMSO

### 2. 试剂耗材准备

#### 试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
RPMI 1640	500 mL	Gibco/C11875500BT
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
Blasticidin	10 mg	Genomeditech/GM-040404-1
Anti-H_CD28 mIgG1 Antibody	/	Genomeditech/GM-30741AB

#### 重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
流式细胞仪	贝克曼库尔特国际贸易（上海）有限公司/CytoFLEX

## 四、细胞复苏、传代、冻存

### 1. 细胞复苏

- a) 37°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。
- b) 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37°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）。
- 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 5 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  $\geq 3 \times 10^6$  cells/mL。
- e) 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到  $4-6 \times 10^5$  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。

### 3. 细胞冻存

- 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  $5 \times 10^6$  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°C下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

### 2. 细胞传代

**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。**

- a) 此细胞为淋巴细胞状，悬浮生长。
- b) 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。
- c) 当细胞密度达到  $1.5-2 \times 10^6$  cells/mL，1 传 3，隔 2-3 天继续传代，不要让其密度超  $2 \times 10^6$  cells/mL，推荐使用 T25 瓶进行传代培养。
- a) 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。

#### 注意事项：

- 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。

FBS 需 56°C 加热 30 分钟，可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。

## 五、 验证结果

### 1. 流式检测蛋白表达

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐H\_CD28 KO Jurkat Cell Line细胞量为 $2 \times 10^5$  cells/管。操作步骤如下：

- a) 实验前，需等待细胞生长速率稳定，约需要3-5 d。
- b) 实验当天，消化H\_CD28 KO Jurkat Cell Line，取100  $\mu$ L细胞悬液（细胞计数后用1% BSA/PBS调整浓度为 $2 \times 10^6$  cells/mL），加入适量的表面抗体（Anti-H\_CD28 mIgG1 Antibody），4°C避光孵育30 min。
- c) 加入1-2 mL 1% BSA/PBS冲洗，400 g 离心5 min，弃上清。重复此步骤2次。
- d) 加入荧光标记的二抗，4°C避光孵育30 min。
- e) 离心弃上清，细胞用1% BSA/PBS重悬（注意避光保存）。
- f) 立即上机检测。
- g) 验证结果。

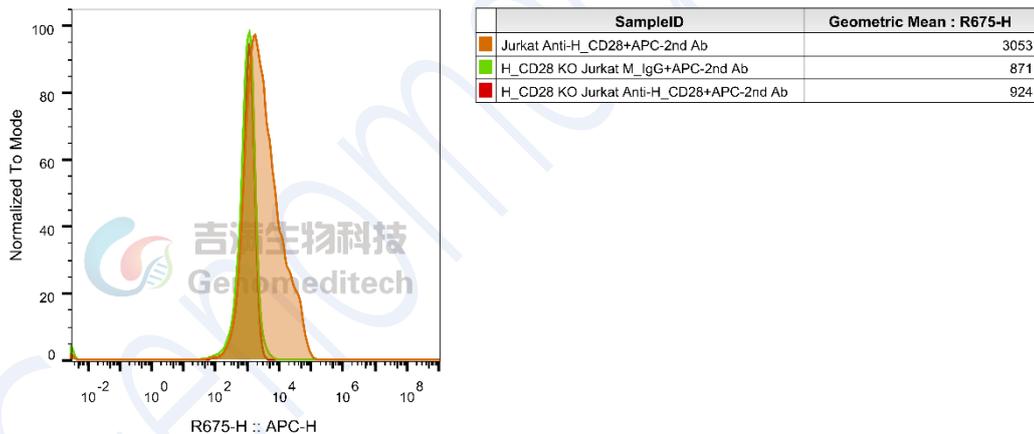


Fig. 流式验证结果

## 附录 1 Sanger 测序结果



Fig. Sanger 测序结果

## 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。

Genomeditech