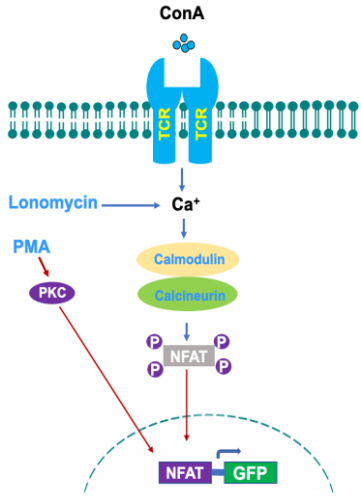


Jurkat(E6)-NFAT-GFP+CD8a(h)-CD8B(h) report cell line

一、基本信息

产品货号	VGC-0010-R108SP	
产品描述	<p>Jurkat(E6)-NFAT-GFP+CD8a(h)-CD8B(h) 稳转细胞株是通过基因编辑技术在人 Jurkat T 淋巴细胞中稳定整合 NFAT (Nuclear Factor of Activated T Cells) 响应元件驱动的绿色荧光蛋白 (GFP) 报告系统构建而成。该细胞株能够在 NFAT 信号通路激活时 (如 T 细胞受体刺激) 高效表达 GFP, 为研究 T 细胞活化、免疫调节及药物筛选提供可视化工具。</p> <p>Jurkat(E6)细胞: Jurkat 源自人 T 淋巴细胞白血病, E6 是 Jurkat 的一个亚克隆, Jurkat 细胞广泛应用于 T 细胞信号转导、免疫应答及药物筛选研究。</p> <p>NFAT-GFP 系统: NFAT 响应元件与最小启动子结合驱动 GFP 表达, 能够灵敏反映细胞内钙离子信号 (如 TCR 激活、钙调磷酸酶通路) 的动态变化。</p>	
应用场景	<ul style="list-style-type: none"> • TCR/CD3 复合体激活研究 • 免疫抑制剂 (如环孢素 A、FK506) 作用机制分析 • 自身免疫疾病或肿瘤免疫治疗的体外模型构建 • 药物高通量筛选 (GFP 信号可定量) 	
细胞形态	淋巴母细胞样, 悬浮生长	
细胞规格	1 × 10 ⁶ 细胞冻存细胞或 T25 细胞瓶细胞	
完全培养基	RPMI-1640 + 10% FBS	
培养条件	(1) 气相: 95%空气, 5% CO ₂ ; (2) 温度: 37 °C。	
传代方法	1: 2 传代, 2~3 天换液一次。	
细胞冻存	无血清冻存液 (VGA-0046-0100) ; -80°C短期保存; 液氮长期保存	
运输条件	活细胞常温运输或冻存细胞干冰运输	





维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

备注信息

如混合稳转细胞株带抗性基因，建议每传 8~10 代用相应抗性药物筛选一次（嘌呤霉素：0.5 μg/mL；潮霉素：0.5 mg/mL）；或在细胞培养过程中添加适当浓度的抗性药物以维持细胞株阳性率（嘌呤霉素：0.1 μg/mL；潮霉素：0.1 mg/mL）。

二、细胞到货处理

1、常温到货细胞

1.1 细胞培养瓶寄送活细胞（细胞处于培养液中）的处理方法：

a) 观察细胞培养瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象。若有，请拍照，并及时与技术支持联系。

b) 用 75%酒精擦拭细胞培养瓶表面，显微镜下观察细胞状态。若因运输问题，部分贴壁细胞从瓶壁脱落,先不要打开培养瓶盖，将细胞置于细胞培养箱内静置培养 2~4 小时，以便稳定细胞状态。

c) 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。

d) 仅留适量细胞培养液（弃去多余），然后将细胞置于 37℃，5% CO₂ 培养箱培养。

e) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

1.2 冻存管寄送活细胞（细胞处于全血清中）的处理方法：

a) 用 75%酒精彻底消毒细胞冻存管，然后在超净工作台将细胞悬液转移至 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。

b) 弃血清，用完全培养基重悬细胞沉淀。

c) 细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37℃，5%CO₂ 培养箱培养。

d) 次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。

e) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

2、干冰运输细胞



www.vigenbio.com



Technical Support



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

- a) 将细胞从干冰中取出后立即置于 37 °C 水浴，轻轻转动冻存管，直至管内细胞完全融化（最好在 1~2 min 内解冻）。
- b) 将冻存管转移到超净工作台，用 75% 酒精彻底消毒冻存管。
- c) 将解冻细胞转移到 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。
- d) 弃细胞冻存液，用完全培养基重悬细胞沉淀。
- e) 将细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37 °C，5% CO₂ 培养箱培养。次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。
- f) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

三、细胞培养

1、细胞复苏

将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37 °C 水浴中快速摇晃至溶解，然后在超净工作台将细胞转移至 15 mL 无菌离心管，加入 4 mL 培养基或无菌 PBS 混合均匀，室温，500 g，离心 5 min，弃上清液，用完全培养基重悬细胞，将细胞移入培养瓶或培养皿培养，第二天更换培养液并检查细胞生长情况。

2、细胞传代

2.1 贴壁细胞传代：当细胞密度约 80% 时，可进行传代培养：

- a) 吸出原培养皿中的培养基，PBS 缓冲液润洗细胞两次，加 2 ~ 3 mL 0.25% 胰酶进行消化（注意根据实际情况，把握消化时间）。
- b) 镜下观察消化情况，在细胞边缘缩小，贴壁松动时（可用吸管吸起些许胰酶轻轻吹打细胞层某处，即可肉眼可见细胞层脱落，或吹打后镜下观察吹打处，即消化完成，否则继续消化）直接吸掉胰酶，加 3 ~ 4 mL 完全培养基，轻轻吹打细胞层，把细胞层吹落，吹散。
- c) 取部分细胞悬液转移至新的培养皿中，添加适当的完全培养基，把细胞悬液打匀，于培养箱中培养。



www.vigenbio.com



Technical Support



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

2.2 悬浮细胞传代：当细胞密度约 80%时，可进行传代培养：

a) 直接将原培养液和细胞一起转移至 15 mL 或 50 mL 无菌离心管，400~500 g 室温离心 5 min，吸掉培养基，用新鲜完全培养基重悬细胞。

b) 根据细胞生长特性，按合适比例传代细胞，将细胞悬液转移至新的培养皿或培养瓶，将细胞置于 37°C 培养箱中培养。

3、细胞冻存

收集细胞，500 g，离心 5 min，弃上清液，加入无血清冻存液（VGA-0046-0100）轻轻悬浮细胞，移入冻存管后进行冻存。

四、NFAT 信号激活与 GFP 检测

1、激活：

激活方式 1: 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ConA 培养 Jurkat(E6)-NFAT-GFP 报告基因细胞株 48h。

激活方式 2: anti-CD3mAb 和 anti-CD28 mAb 抗体包被培养板（终浓度 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ），Jurkat(E6)-NFAT-GFP 报告基因细胞株刺激 48h。

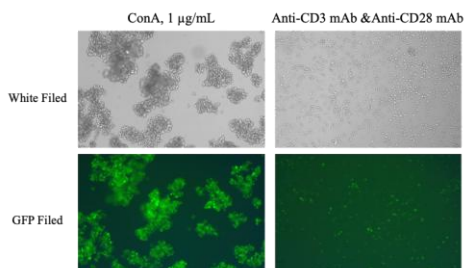
2、GFP 表达检测：

流式细胞术：488 nm 激发，530/30 nm 检测通道。

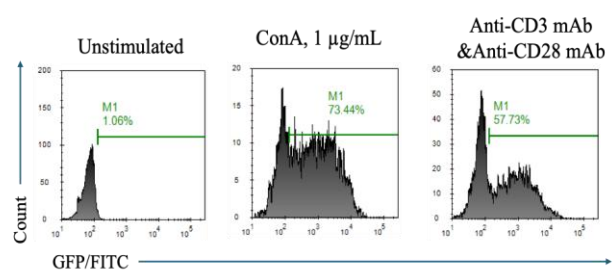
荧光显微镜：使用 100 \times 物镜观察 GFP 表达。

3、GFP 表达检测结果如下：

A



B



五、使用须知



www.vigenbio.com



Technical Support



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

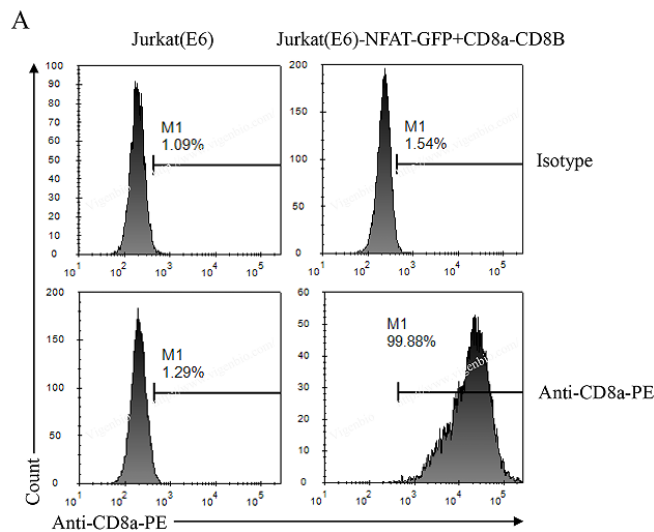
VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

- 1) 本产品仅供购买方单方使用，不得向任何第三方赠送、转让或销售；
- 2) 本产品仅供实验室和体外研究使用，不能用于任何临床检验、诊断、治疗，或任何非法用途；
- 3) 收货 48 h 内如若发现异常，请及时联系售后，逾期视为收货良好；
- 4) 请严格按照本说明书操作，否则造成细胞失活等情形，不予提供补发服务。

六、细胞株质检



B

BioLegend
From Revvity

Version: 4 Revision Date: 07/13/2015

PE anti-human CD8 Antibody

Catalog# / Size 344705 / 25 tests
344706 / 100 tests

Clone SK1

Regulatory Status RUO

Other Names T8, Leu2

Isotype Mouse IgG1, κ

Description CD8a is a 32-34 kD type I glycoprotein. It forms a homodimer (CD8a/a) or heterodimer (CD8a/b) with CD8b. CD8, also known as T8 and Leu2, is a member of the immunoglobulin superfamily found on the majority of thymocytes, a subset of peripheral blood T cells, and NK cells (which express almost exclusively CD8a homodimers). CD8 acts as a co-receptor with MHC class I-restricted T cell receptors in antigen recognition and T cell activation and has been shown to play a role in thymic differentiation. Two domains in CD8a are important for function: the extracellular IgSF domain binds the α₃ domain of MHC class I and the cytoplasmic CXCP motif binds the tyrosine kinase p56 Lck.

Fig.1. Jurkat(E6)-NFAT-GFP+CD8a(h)-CD8B(h) 稳转株 COA

A、PE检测细胞株CD8a表达；B、PE检测抗体信息。



www.vigenbio.com



Technical Support