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

产品手册

H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 Cell Line

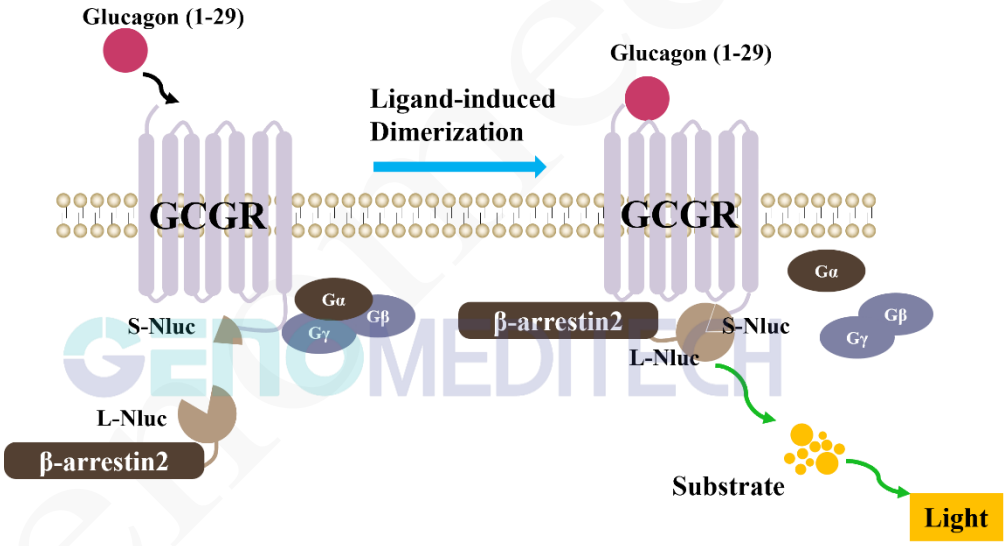
货号: GM-C44432

版本号：4.0.26.1112

GCGR 是一种重要的细胞膜受体，属于 G 蛋白偶联受体（GPCR）家族，具有典型的七次跨膜结构，能够与不同的 G 蛋白相互作用，激活下游信号通路。其结构的特异性使其能够与胰高血糖素（Glucagon）高亲和力结合，调节多种生理反应。

GCGR 主要与胰高血糖素结合，参与调节肝糖原分解、糖异生、血糖稳态和能量代谢。在肝脏、肾脏、胰腺、胃肠道、脂肪组织和中枢神经系统中广泛表达，发挥着关键的代谢调控功能。GCGR 的功能失调与 2 型糖尿病、肥胖症及代谢综合征等多种疾病密切相关。因此，GCGR 及其信号通路成为了代谢性疾病领域极具潜力的治疗靶点。

吉满生物 H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 Cell Line 报告基因细胞系，是基于 β-arrestin 信号通路构建的一种 Luciferase 报告基因细胞系。当配体与 GCGR 结合后，招募下游的融合荧光素酶报告基因的 β-Arrestin2，当加入荧光素酶底物后，催化底物反应，从而产生可检测的发光信号。因此可用于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

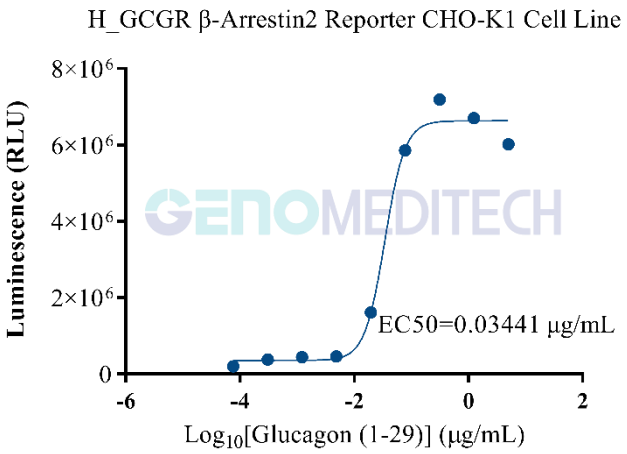
数量	5E6 Cells per vial,1 mL
产品形式	1 支冻存细胞
储运条件	干冰运输，－196°C 以下长期储存
复苏培养基	F12K+10% FBS+1% P.S
生长培养基	F12K+10% FBS+1% P.S+2 μg/mL Puromycin
培养备注	无
细胞冻存液	90% FBS+10% DMSO
生长特性	贴壁
培养条件	37°C, 5% CO_2
支原体检测	该细胞系已通过支原体检测，结果为阴性。
生物安全等级	Biosafety Level 2
备注	建议尽早扩增该细胞，并冻存至少 10 支，以便后续使用。

实验材料与仪器

名称	**Manufacturer/Catalogue No.**
F12K	BOSTER/PYG0036
Fetal Bovine Serum	ExCell/FSP500
Pen/Strep	Thermo/15140-122
Puromycin	Genomeditech/GM-040401
96-well Flat Clear Bottom White Polystyrene TC-treated Microplates	Corning/3903
96-well U-bottom Plate	Saining/1014010
Glucagon (1-29), bovine, human	MCE/HY-P0082
Anti-H_GCGR hIgG2 Antibody(volagidemab)	Genomeditech/GM-84555AB
Nano-Glo®Live Cell Assay System	Promega/N2012
Countess 3 Automated Cell Counter	ThermoFisher/A49891
SpectraMax® L Microplate Luminometer	Moleculardevices/SpectraMax L

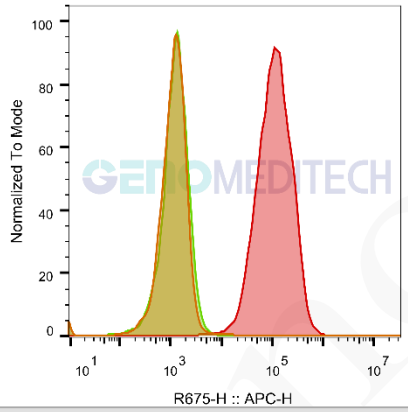
验证结果

信号通路



Glucagon (1-29), bovine, human 激活验证。H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 细胞系（GM-C44432）按 1E4 细胞/孔接种于 96 孔板，加入梯度稀释的 Glucagon (1-29), bovine, human (MCE/HY-P0082)，于 assay buffer（F12K+1% FBS+1 % P.S）中孵育 1.5 小时后，采用 Nano-Glo®Live Cell Assay System (Promega/N2012) 检测 NanoLuc®荧光素酶活性，最大诱导倍数约为 [22.4]，数据以药物质量浓度表示。 [protocol]

表达



SampleID	Geometric Mean : R675-H
CHO-K1 Anti-H_GCGR+APC 2nd Ab	1137
H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 Anti-H_IgG+APC 2nd Ab	1186
H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 Anti-H_GCGR+APC 2nd Ab	106300

GCGR 流式表达验证。采用流式细胞术，用 Anti-H_GCGR hIgG2 Antibody(volagidemab) (GM-84555AB)检测 H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 细胞系（GM-C44432）的 GCGR 表达。

细胞复苏

复苏培养基：F12K+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，活细胞≥ 3E6 cells/mL。

e) 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 2-3E5 cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。

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。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： F12K+10% FBS+1% P.S+2 μg/mL Puromycin

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) 此细胞呈梭状，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况。当细胞密度大于 60%，即可进行细胞传代。

b) 将皿或培养瓶中的培养液弃去，10 cm 皿加 2 mL PBS 润洗 1 次。

c) 弃 PBS，加 1 mL 0.25% Trypsin-EDTA 消化液，37° C 消化 2-3 min，显微镜下观察。

d) 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 × g 室温离心 3 min。

e) 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 20-30%）。

细胞传代比例为 1:4-1:5，2-3 天传代。

培养备注

a) 细胞状态稳定后，传代后死细胞会变少，细胞生长速度趋于稳定，细胞形态均匀，胞体健壮。

实验方案

激活实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 Cell Line 细胞量为 1 × 10^4 cells/孔。本次实验使用 Glucagon (1-29), bovine, human（以下简称 Glucagon (1-29)）作为阳性药物，Conc.01 浓度终为 5 μg/mL，4 倍梯度稀释。Conc.1-Conc.9 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	Glucagon (1-29)	PBS	5.00 μg/mL	1.25 μg/mL	312.50 ng/mL	78.13 ng/mL	19.53 ng/mL	4.88 ng/mL	1.22 ng/mL	305.18 pg/mL	76.29 pg/mL	0	PBS
C		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D													
E													
F													
G													
H													

加样步骤

a) 在实验前 16-24 h，将细胞从培养瓶中取出，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 × 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。盖上板盖，于孵箱中孵育过夜。

b) 使用无菌 96 孔 U 底板准备药物稀释。

c) 对于待测样品，使用一行（如 B 行）。

d) 母液配置

药物名称	储液	母液	配置方法
Glucagon (1-29)	1 mg/mL	0.1 mg/mL	2 μL 储液+18 μL Assay Buffer

e) 加入 Assay Buffer，各孔体积见下表。如 B2 孔中加入 160 μL 的 Assay buffer，B3-B11 加入 120 μL 的 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 8.42 μL Glucagon (1-29)）。

母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 40 μL 加入次孔									对照孔	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
.A												
B	8.42 μL Glucagon (1-29)	160 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	120 μL	
C												
D												
E												
F												
G												
H												

g) 从第一个梯度稀释孔（如 B2）中吸取 40 μL 液体，加入到第二个梯度稀孔中（如 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 孵育过夜的细胞孔板取出，吸弃上清 100 μL。

j) 将之前准备好的梯度稀释液每孔加入 100 μL。

k) 盖上检测板盖，于 37°C CO_2 培养箱中培养 1.5 h。

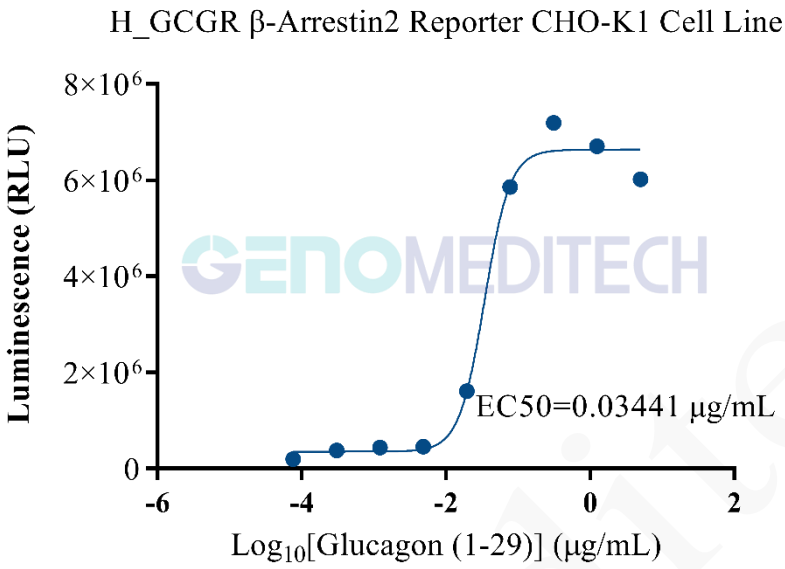
l) 收样检测。

报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_GCGR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 Cell Line	0 μg/mL	5 μg/mL	76.29 pg/mL
	268513	6019411	194571

验证结果



相关产品

GCGR	
H_GCGR Reporter CHO-K1 Cell Line	H_GCGR Reporter HEK-293 Cell Line
H_GCGR Reporter HEK-293 DDX35TM Cell Line	Cynomolgus_GCGR HEK-293 Cell Line
H_GCGR CHO-K1 Cell Line	H_GCGR HEK-293 Cell Line
Mouse_GCGR HEK-293 Cell Line	
Anti-H_GCGR hIgG2 Antibody(volagidemab)	
Human GCGR(26-136) Protein; hFc Tag	Human GCGR(26-136) Protein; His Tag
GLP1R	
H_GLP1R GIPR GCGR Triple Reporter 293 Cell Line	H_GLP1R GIPR Reporter CHO-K1 Cell Line
H_GLP1R Reporter CHO-K1 Cell Line	H_GLP1R Reporter HEK-293 Cell Line
H_GLP1R Reporter HEK-293 DDX35TM Cell Line	H_GLP1R β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line
Cynomolgus_GLP1R GIPR CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_GLP1R HEK-293 Cell Line
H_GLP1R CHO-K1 Cell Line	H_GLP1R GIPR CHO-K1 Cell Line
H_GLP1R HEK-293 Cell Line	Mouse_GLP1R GIPR CHO-K1 Cell Line
Mouse_GLP1R HEK-293 Cell Line	Rat_GLP1R HEK-293 Cell Line
Anti-GLP1R hIgG1 Antibody(mAb-36986)	Anti-H_GLP1R hIgG1 Antibody(glutazumab)
FGFR1	
H_FGF21 Reporter HEK-293 Cell Line	Mouse_FGF21 Reporter HEK-293 Cell Line
Human FGF-21 Protein; His Tag	
CALCA(CGRP):CALCRL RAMP	

H_CALCRL RAMP1 Reporter HEK-293 Cell Line	H_CALCRL RAMP1 Reporter HEK-293 DDX35TM Cell Line
Cynomolgus_CALCRL RAMP1 HEK-293 Cell Line	H_CALCRL RAMP1 CHO-K1 Cell Line
H_CALCRL RAMP1 HEK-293 Cell Line	
Anti-CALCRL RAMP1 hIgG2 Antibody(Erenumab)	
GPR75	
H_GPR75 HEK-293 Cell Line	
GIPR	
H_GIPR Reporter CHO-K1 Cell Line	H_GIPR Reporter HEK-293 Cell Line
H_GIPR Reporter HEK-293 DDX35TM Cell Line	H_GIPR β-Arrestin2 Reporter CHO-K1 Cell Line
Cynomolgus_GIPR CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_GIPR HEK-293 Cell Line
H_GIPR CHO-K1 Cell Line	H_GIPR HEK-293 Cell Line
Mouse_GIPR CHO-K1 Cell Line	Mouse_GIPR HEK-293 Cell Line
Anti-H_GIPR hIgG1 Antibody(AMG-133)	
ACVR2A:ACTRIIB:Active A	
ACVR2A KO HEK-293 Cell Line	ACVR2B KO HEK-293 Cell Line
Activin A Reporter Cell Line	BRE Reporter 293 Cell Line
H_ACVR2A Reporter Cell Line	H_ACVR2B Reporter Cell Line
H_ACVR2B Reporter DDX35TM Cell Line	H_ACVR2A HEK-293(ACVR2B KO) Cell Line
H_ACVR2B CHO-K1 Cell Line	H_ACVR2B HEK-293(ACVR2A KO) Cell Line
GDF8 Pro-Latent Activation Reporter 293 Cell Line	
Anti-ACVR2A hIgG1 Antibody(LAE-102)	Anti-ACVR2B hIgG1 Antibody(Bimagrumab)
Anti-ACVR2B hIgG1 Antibody(Fab-17G05)	Anti-ACVR2B mIgG2a Antibody(Bimagrumab)
Anti-GDF8 hIgG4 Reference Antibody (Apitbio)	Anti-H_ACVR2B hIgG1 Reference Antibody(Bimbio)
Biotinylated Human ACVR2A Protein; His-Avi Tag	Biotinylated Human ACVR2B Protein; His-Avi Tag
Biotinylated Mouse ACVR2A Protein; His-Avi Tag	Biotinylated Mouse ACVR2B Protein; His-Avi Tag
Human Activin A Protein; His Tag	Human Activin A Protein; His Tag (CHO)
Human Activin B Protein; His Tag	Human ACVR2A Protein; hFc Tag
Human ACVR2A Protein; hFc Tag (Sotatercept)	Human ACVR2A Protein; His Tag
Human ACVR2B Protein; hFc Tag	Human ACVR2B Protein; His Tag
Human latent GDF-8 Protein; His Tag	Mouse ACVR2A Protein; His Tag
Mouse ACVR2B Protein; His Tag	
AMY:CALCR RAMP	
H_CALCR RAMP1(AMY1) Reporter CHO-K1 Cell Line	H_CALCR RAMP2(AMY2) Reporter CHO-K1 Cell Line
H_CALCR RAMP3(AMY3) Reporter CHO-K1 Cell Line	H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line
H_CALCR Reporter CHO-K1 Cell Line	H_CALCR β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line
H_GLP1R CALCR RAMP3(AMY3) Reporter CHO-K1 Cell Line	Rat_CALCR RAMP1(AMY1) Reporter COS-7 Cell Line
Rat_CALCR RAMP3(AMY3) Reporter COS-7 Cell Line	Rat_CALCR Reporter COS-7 Cell Line
THRB	
H_THRα Reporter HEK-293 Cell Line	H_THRβ Reporter HEK-293 Cell Line
MC4R	

H_MC4R Reporter HEK-293 Cell Line	
GLP2R	
H_GLP2R Reporter 293 Cell Line	H_GLP2R HEK-293 Cell Line
ASGR1	
Cynomolgus_ASGR1 CHO-K1 Cell Line	H_ASGR1 CHO-K1 Cell Line
H_ASGR1 HEK-293 Cell Line	
Anti-ASGR1 hIgG1 Antibody(4A2.001)	
Cynomolgus ASGR1 Protein; hFc Tag	Cynomolgus ASGR1 Protein; His Tag
Human ASGR1 Protein; hFc Tag	Human ASGR1 Protein; His Tag
Mouse ASGR1 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