

产品手册

FcεRIα Reporter RBL-2H3 Cell Line

FcεRIα Reporter RBL-2H3 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、	产品描述.....	4
四、	材料准备.....	5
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	5
2.	试剂耗材准备.....	5
五、	细胞复苏、传代、冻存.....	6
1.	细胞复苏.....	6
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）.....	6
3.	细胞冻存.....	6
六、	使用方法（示例）.....	7
1.	Human IgE 验证实验.....	7
1)	加样步骤.....	7
2)	报告基因检测.....	8
3)	验证结果.....	9
2.	Omalizumab 验证实验.....	9
1)	加样步骤.....	9
2)	报告基因检测.....	11
3)	验证结果.....	11
附录 1:	流式验证结果.....	12
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-C40137	FcεRIα Reporter RBL-2H3 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C40137	FcεRIα Reporter RBL-2H3 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

FcεRIα（高亲和力IgE受体α亚基）是免疫球蛋白E（IgE）的特异性受体，主要表达于肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面，在I型超敏反应中起核心作用。该蛋白由胞外区、跨膜区和短胞内尾组成，其胞外区包含两个Ig样结构域（D1和D2），直接结合IgE抗体的Fc段恒定区（Fcε3结构域）。当多价过敏原交联细胞膜上FcεRIα结合的IgE时，会触发受体聚集，激活下游信号通路（如Syk激酶、Ca²⁺内流和NFAT转录因子），导致细胞脱颗粒释放组胺、白三烯等炎症介质。FcεRIα与IgE的结合具有超高亲和力（Kd~10⁻¹⁰M），这种特性使其成为过敏性疾病治疗的关键靶点，例如抗IgE单抗奥马珠单抗（Omalizumab）正是通过阻断IgE与FcεRIα的结合发挥治疗作用。由于人类细胞系天然缺乏FcεRIα的高表达，研究中常通过转染RBL-2H3大鼠嗜碱性白血病细胞构建模型，用于过敏机制研究和药物筛选。

吉满生物FcεRIα Reporter RBL-2H3 Cell Line是一种Luciferase报告基因细胞系。IgE-biotin通过Fc区与FcεRIα结合，同时其biotin可被链霉亲和素（Streptavidin）交联，模拟过敏原诱导的受体聚集，激活下游信号通路；Omalizumab作为抗IgE单抗，其Fab段特异性结合游离IgE的Fcε3结构域，阻断IgE与FcεRIα的结合，抑制下游信号通路，从而抑制荧光素酶（Luciferase）的表达。Luciferase 读值即代表信号通路的激活效果。因此可用于评估抗IgE抗体的生物活性。

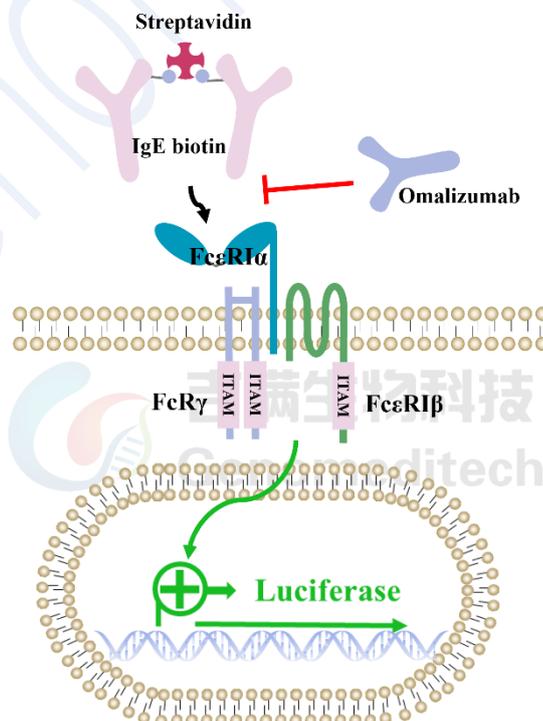


Fig 1.作用原理

四、 材料准备

1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基:	MEM+15% FBS+1% P.S+1% NEAA+0.11 mg/mL Sodium Pyruvate
细胞生长培养基:	MEM+15% FBS+1% P.S+1% NEAA+0.11 mg/mL Sodium Pyruvate+1 µg/mL Blasticidin+0.5 µg/mL Puromycin
细胞冻存液:	90% FBS+10% DMSO
Assay Buffer:	MEM+1% FBS+1% P.S

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
MEM	500 mL	gibco/11095080
Fetal Bovine Serum	500 mL	Cegrogen biotech/A0500-3010
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
NEAA	100 mL	Pricella/PB180424
Sodium Pyruvate Solution	100 mL	Viva Cell/C3546-0100
Blasticidin	10 mg	Genomeditech/GM-040404-1
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
96 Well Clear V-Bottom Tissue Culture	96-well	Corning/3894
96 well White Flat Bottom Polystyrene Not Treated	96-well	Corning/3912
Microplate		
Biotinylated Human IgE Isotype Control; His-Avi Tag (Anti-RSV)	/	Genomeditech/GM-88131AB
Streptavidin	1 mg	Yeasen/35101ES03
Anti-IGHE hIgG1 Reference Antibody(Omalbio)	/	Genomeditech/GM-87960MAB
Anti-FcεRI hIgG1 Antibody (1E7)	/	Genomeditech/GM-88159AB
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

五、细胞复苏、传代、冻存

1. 细胞复苏

- 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。
- 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）。
- 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 3 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。
- 通过补加复苏培养基的形式，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。

- 此细胞呈梭形，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况。推荐细胞传代比例为 1:3-1:4，2-3 天传代。密度不可超过 80%，否则会出现细胞因密度过高变圆并大量脱落。
- 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°C 消化 2-3 min，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 20-30%）。

注意事项：

- RBL-2H3 细胞密度稀时形态呈多边形贴壁，随着密度增高时细胞会有圆细胞出现。密度不可超过 80%，否则会出现细胞因密度过高变圆并大量脱落。

六、使用方法（示例）

1. Human IgE 验证实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 FcεRIα Reporter RBL-2H3 Cell Line 细胞量为 1×10^4 Cells/孔。使用 Biotinylated Human IgE Isotype Control; His-Avi Tag (Anti-RSV) (以下简称 Human IgE; 171.8 KDa) 作为阳性药物，Conc.01 终浓度为 20 μg/mL，4 倍梯度稀释，Conc.01-Conc.09 分别排布在 B2-B10，B11 为 0 浓度对照。周围为 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 IgE	PBS 20.00 μg/mL	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	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

- 第一天上午：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 1×10^5 cells/mL。以排枪加 100 μL 细胞/孔至中间孔，周围的孔加 100 μL PBS。至少孵育 4 h。
- 使用 1 个无菌 96 孔 V 底板准备抗体稀释。
- 每个待测抗体，使用一行（如 B2-B10）。
- 准备母液

抗体名称	储液	母液	配置方法
Human IgE	1 mg/mL	5 μg/mL	直接使用储液
Streptavidin	5 mg/mL	/	直接使用储液

- 96 孔 V 底板中，加入 Assay Buffer，各孔体积见下表，如 B2 孔加入 160 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 3.27 μL Human IgE），混匀。

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	3.27 μL Human IgE	加入	160 μL	120 μL									
C													
D													
E													
F													
G													
H													

- g) 从第一个梯度稀释孔 B2 中吸取 40 μL ，加入到第二个梯度稀释孔 B3，混匀。
- h) 以此类推，直至第 9 个梯度稀释孔（B10）。
- i) 取出步骤 a 孵育好的细胞孔板，轻轻吸弃上清，然后加入步骤 h 准备好的梯度稀释液，每孔 100 μL ，盖上盖板，孵育过夜。
- j) 第二天上午：取出步骤 i 的混合溶液孔板，吸弃上清，然后加入 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Streptavidin（4.85 μL 5 mg/mL Streptavidin 母液加入到 1205.3 μL Assay Buffer 中，混匀后使用）溶液，每孔 100 μL 。
- k) 盖上盖板，继续孵育 3 h。
- l) 收样检测 Luciferase。

2) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

Fc ϵ RI α Reporter RBL-2H3 Cell	0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$	305.18 pg/mL
Line + 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Streptavidin	5143	255986	5161

3) 验证结果

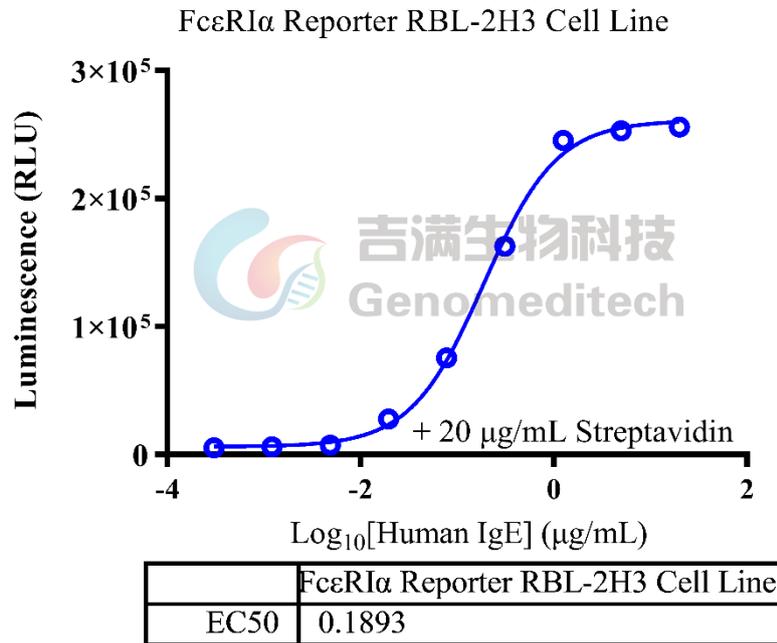


Fig 2. 功能验证结果

2. Omalizumab 验证实验

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐 FcεRIα Reporter RBL-2H3 Cell Line 细胞量为 1×10^4 Cells/孔。使用 Anti-IGHE hIgG1 Reference Antibody(Omalbio) (以下简称为 Omalizumab;150 kDa)作为阳性药物，Conc.01 终浓度为 25 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。周围为 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	Omalizumab	PBS	25.00 μg/mL	8.33 μg/mL	2.78 μg/mL	925.93 ng/mL	308.64 ng/mL	102.88 ng/mL	34.29 ng/mL	11.43 ng/mL	3.81 ng/mL	0	PBS
C		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	
D													
E													
F													
G													
H													

1) 加样步骤

- a) 第一天上午：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 1×10^5

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。至少孵育 4 h。

- b) 使用 1 个无菌 96 孔 V 底板准备抗体稀释。
- c) 每个待测抗体，使用一行（如 B2-B10）。
- d) 准备母液

抗体名称	储液	母液	配置方法
Omalizumab	7.4 mg/mL	/	直接使用储液
Human IgE	1 mg/mL	0.1 mg/mL	取 2 μ L 储液+18 μ L Assay Buffer
Streptavidin	5 mg/mL	/	直接使用储液

- e) 96 孔 V 底板中，加入 Assay Buffer，各孔体积见下表，如 B2 孔加入 90 μ L Assay Buffer，B3-B11 孔，加入 60 μ L 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 0.61 μ L Omalizumab），混匀。

	母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 30 μ L，加入次孔										对照孔	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A													
B	0.61 μ L Omalizumab	加入	90 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 30 μ L，加入到第二个梯度稀释孔 B3，混匀。
- h) 以此类推，直至第 9 个梯度稀释孔（B10）。
- i) 配置 2 \times Human IgE: 400 ng/mL Human IgE（7.23 μ L 0.1 mg/mL Human IgE 母液加入到 1800 μ L Assay Buffer 中，混匀后使用）。
- j) 取出步骤 h 准备好后的梯度溶液孔板，然后加入步骤 i 准备好的 Human IgE 溶液，每孔 55 μ L，孵育 1 h。
- k) 取出步骤 a 孵育好的细胞孔板，轻轻吸弃上清，然后加入步骤 j 孵育好的混合溶液，每孔 100 μ L，盖上盖板，孵育过夜。

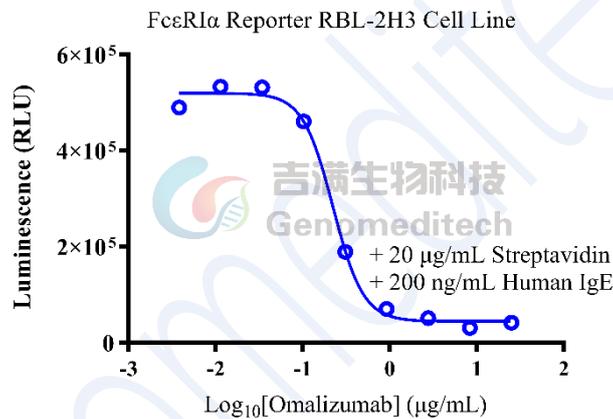
- l) 第二天上午:取出步骤 k 的混合溶液孔板,吸弃上清,然后加入 20 $\mu\text{g/mL}$ Streptavidin (4.85 μL 5 mg/mL Streptavidin 母液加入到 1205.3 μL Assay Buffer 中,混匀后使用)溶液,每孔 100 μL 。
- m) 盖上盖板,继续孵育 3 h。
- n) 收样检测 Luciferase。

2) 报告基因检测

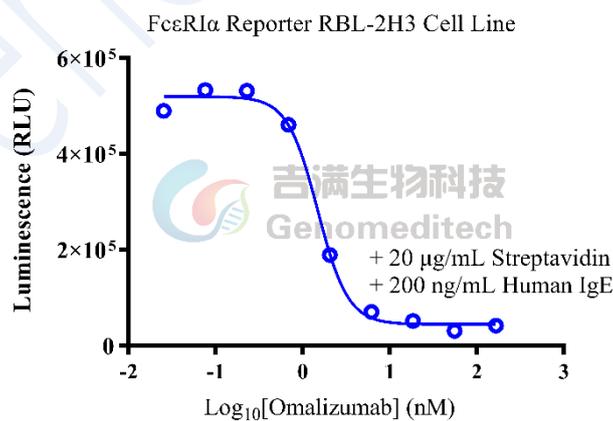
参考报告基因检测说明书。

Fc ϵ RI α Reporter RBL-2H3 Cell Line + 20 $\mu\text{g/mL}$ Streptavidin + 200 ng/mL Human IgE	0 $\mu\text{g/mL}$	25.00 $\mu\text{g/mL}$	3.81 ng/mL
	435959	41235	489085

3) 验证结果



	Fc ϵ RI α Reporter RBL-2H3 Cell Line
IC ₅₀	0.2242



	Fc ϵ RI α Reporter RBL-2H3 Cell Line
IC ₅₀	1.494

Fig 3. 功能验证结果

(对抗体进行质量浓度和摩尔浓度的换算绘制)

附录 1：流式验证结果

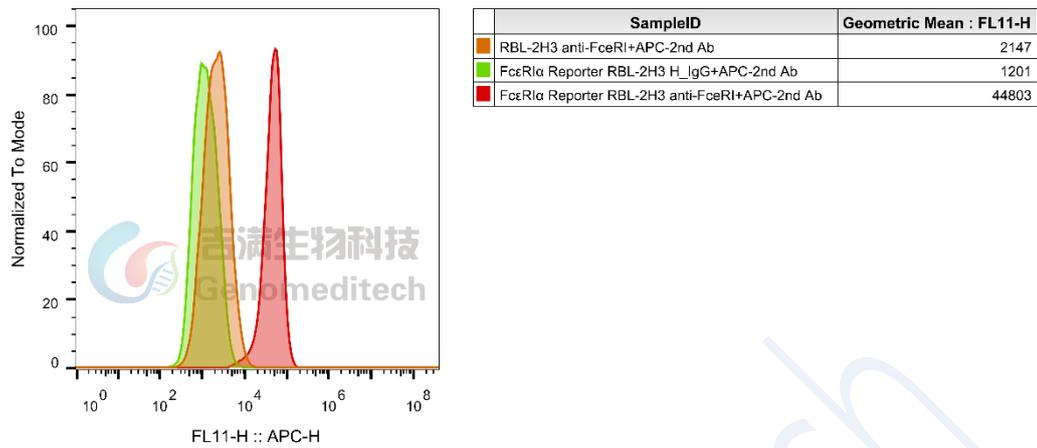


Fig 4. FcεRIα Reporter RBL-2H3 Cell Line (Genomeditech/GM-C40137) 使用 Anti-FcεRI hIgG1 Antibody (1E7) (Genomeditech/GM-88159AB) 流式验证结果

相关产品

c-Kit:SCF	
H_c-Kit(CD117) GNNK(-) 293 Blockade Reporter Cell Line	Cynomolgus_c-Kit(CD117) GNNK(-) CHO-K1 Cell Line
H_c-Kit(CD117) GNNK(-) CHO-K1 Cell Line	H_c-Kit(CD117) GNNK(-) HEK-293 Cell Line
H_c-Kit(CD117) GNNK(+) CHO-K1 Cell Line	
Anti-c-Kit(CD117) hIgG1 Antibody(barzolvolimab)	Anti-c-Kit(CD117) hIgG1 Antibody(briquilimab)
Anti-c-Kit(CD117) hIgG1 Reference Antibody(barbio)	
Biotinylated Human c-Kit(CD117) Protein; His-Avi Tag	Biotinylated Human SCF Protein; His-Avi Tag
Cynomolgus c-Kit(CD117) Protein; His Tag	Human c-Kit(CD117) D4-D5 Protein; His Tag
Human c-Kit(CD117) Protein; hFc Tag	Human c-Kit(CD117) Protein; His Tag
Human SCF Protein; His Tag	Human SCF Protein; mFc Tag
MRGPRX2	
H_MRGPRX2 Gqi5 Reporter CHO-K1 Cell Line	Tango-H_MRGPRX2 CHO-K1 Cell Line
Cynomolgus_MRGPRX2 CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_MRGPRX2 HEK-293 Cell Line
Flag-Mouse_Mrgprb2 CHO-K1 Cell Line	Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 Cell Line
H_MRGPRX2 CHO-K1 Cell Line	H_MRGPRX2 HEK-293 Cell Line
H_MRGPRX2 HMC-1 Cell Line	H_MRGPRX2 RBL-2H3 Cell Line
IGHE(FcεRIα)	
Membrane IgE(mIgE) HEK-293 Cell Line	
Biotinylated Human IgE D2-D4 Protein; His-Avi Tag	Cynomolgus IgE D2-D4 Protein; His Tag
Human FCER1A Protein; His Tag	Human FCER2(CD23) Protein; His Tag
Human IgE D2-D4 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。