

产品手册

H_MRGPRX2 RBL-2H3 Cell Line

H_MRGPRX2 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、	背景.....	3
二、	产品基本信息及组分.....	3
三、	包装、运输及储存.....	3
四、	材料准备.....	4
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	4
2.	试剂耗材准备.....	4
五、	细胞复苏、传代、冻存.....	5
1.	细胞复苏.....	5
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）.....	5
3.	细胞冻存.....	5
六、	验证结果.....	6
1.	流式检测蛋白表达.....	6
附录 1	H_MRGPRX2 氨基酸序列（Q96LB1）.....	7
附录 2	脱颗粒检测.....	7
相关产品.....		8
使用许可协议：.....		9

一、背景

MRGPRX2 (Mas-related G protein-coupled receptor X2) 是一种 G 蛋白偶联受体, 其介导的肥大细胞激活途径与药物过敏、自发性荨麻疹及慢性炎症等多种疾病密切相关。目前, MRGPRX2 已成为过敏反应、炎症机制及药物风险预测领域的重要研究靶点。

Compound 48/80 能够激活肥大细胞表面的 MRGPRX2, 引发细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 最终诱导细胞脱颗粒 (degranulation), 并释放组胺与 β -氨基己糖苷酶 (β -Hexosaminidase, β -Hex) 等介质。Cortistatin-14 是 MRGPRX2 的内源性激动剂, 同样能够结合并激活该受体, 促进肥大细胞脱颗粒反应, 被广泛用作 MRGPRX2 功能及信号通路研究的工具分子。

吉满生物提供的 H_MRGPRX2 RBL-2H3 过表达细胞系可稳定表达人源 MRGPRX2 基因。该细胞模型以大鼠嗜碱性白血病细胞 (RBL-2H3) 为基础, 通过检测 β -氨基己糖苷酶的释放, 可以定量分析如 Compound 48/80 和 Cortistatin-14 等激动剂诱导的肥大细胞脱颗粒反应。该细胞系为 MRGPRX2 相关的过敏和炎症机制研究及潜在调节剂的筛选提供了高效、可靠的平台。

二、产品基本信息及组分

基本信息

产品编号	产品名称	规格
GM-C40579	H_MRGPRX2 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-C40579	H_MRGPRX2 RBL-2H3 Cell Line	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C

三、包装、运输及储存

- 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。
- 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。
- 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。

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:	EMEM(ATCC)+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	EMEM(ATCC)+10% FBS+1% P.S+0.25 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.
EMEM	500 mL	ATCC/30-2003
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
APC anti-human MRGX2 Antibody	/	Biolegend/359006
Compound 48/80	25 mg	MCE/HY-115768
Cortistatin-14	500 µg	TargetMol/TP1570
大鼠 β 氨基己糖苷酶(β-Hex)ELISA 试剂盒	48T	mlbio/ml038039

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

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、 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_MRGPRX2 RBL-2H3 Cell Line细胞量为 2×10^5 cells/管。操作步骤如下：

- 实验前，需等待细胞生长速率稳定，约需要3-5 d。
- 实验当天，消化H_MRGPRX2 RBL-2H3 Cell Line，取100 μ L细胞悬液（细胞计数后用1% BSA/PBS调整浓度为 2×10^6 cells/mL），加入适量的表面抗体（APC anti-human MRGX2 Antibody），4℃避光孵育30 min。
- 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。
- 立即上机检测。
- 验证结果。

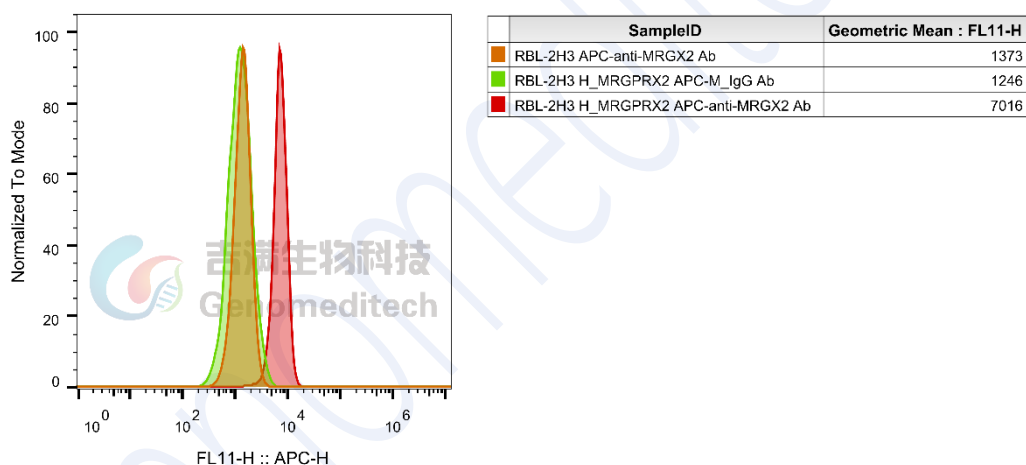


Fig 1.流式验证结果

附录 1 H_MRGPRX2 氨基酸序列 (Q96LB1)

MDPTTPAWGTESTTVNGNDQALLLCGKETLIPVFLILFIALVGLVGNGFVLWLLGFRMR
RNAFSVYVLSLAGADFLFLCFQIINCLVYLSNFFCSISINFPSFFTTVMTCAYLAGLSMLSTV
STERCLSVLWPIWYRCRRPRHLSAVVCVLLWALSLLLSILEGKFCGFLFSDGDSGWCQTF
DFITAAWLIFLFMVLCGSSLALLVRILCGSRGLPLTRLTYLTILLTVLVFLLCGLPFGIQWFLI
LWIWKDSDVLFCHIHPSVSVLSSLNSSANPIIYFFVGSFRKQWRLQQPILKLALQRALQDIA
EVDHSEGCFRQGTPEMSRSSLV

附录 2 脱颗粒检测

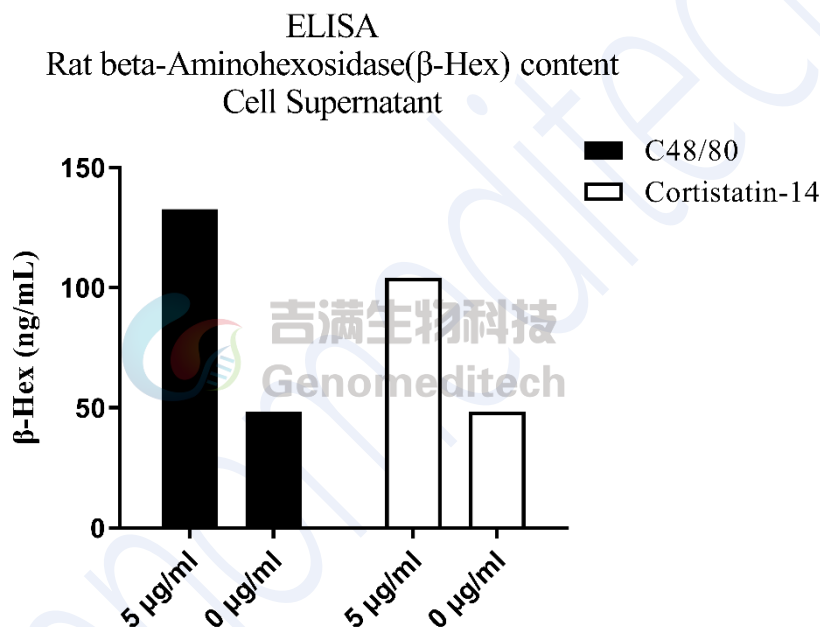


Fig 2. 脱颗粒检测结果

分别制备 Compound 48/80、Cortistatin-14 稀释液，提前 16-24 h 配置 H_MRGPRX2 RBL-2H3 Cell Line。将 Compound 48/80、Cortistatin-14 稀释液均按 5 μ g/mL 和 0 μ g/mL 加入细胞孔板中孵育 1.5 h，取上清，使用大鼠 β 氨基己糖苷酶(β -Hex)ELISA 试剂盒 (mlbio/ml038039) 进行 ELISA 检测，测得 OD450 值，根据标准品浓度及对应的 OD450 值绘制标准曲线，将纵坐标换算为 β -Hex (ng/mL) 浓度。

相关产品

OX40	
H_OX40 Reporter Cell Line	H_OX40 Reporter DDX35TM Cell Line
Cynomolgus_OX40L CHO-K1 Cell Line	H_OX40 CHO-K1 Cell Line
H_OX40L CHO-K1 Cell Line	H_OX40L HEK-293 Cell Line
Anti-H_OX40 hIgG2 Antibody(Ivuxolimab)	Anti-OX40L hIgG1 Reference Antibody(Oxebio)
Anti-OX40L hIgG4 Antibody(Amlitelimab)	Anti-OX40L hIgG4 Reference Antibody(Amlbio)
Biotinylated Human OX40L Protein; His-Avi Tag	Cynomolgus OX40 Protein; His Tag
Cynomolgus OX40L Protein; His Tag	Cynomolgus OX40L Protein; mFc Tag
Human OX40 Protein; His Tag	Human OX40L Protein; His Tag
Human OX40L Protein; mFc Tag	
IL-4/IL-13	
IL-4 Reporter Cell Line	IL-4/IL-13 Reporter 293 Cell Line
IL-4/IL-13 Reporter 293 DDX35TM Cell Line	Cynomolgus_IL4R CHO-K1 Cell Line
H_IL4R CHO-K1 Cell Line	
Anti-IL-4R hIgG1 Antibody(12B5)	Anti-IL4R hIgG4 Antibody(Dupilumab)
Anti-IL4R hIgG4 Reference Antibody (Dupbio)	
Cynomolgus IL-4R alpha Protein; His Tag	Human IL-4R alpha Protein; His Tag
Human IL-4R alpha Protein; mFc Tag	
IL-31	
Cynomolgus_IL-31RA OSMR Reporter Baf3 Cell Line	H_IL-31 Reporter Cell Line
Cynomolgus_IL31RA CHO-K1 Cell Line	H_IL31RA CHO-K1 Cell Line
H_IL31RA HEK-293 Cell Line	H_IL-31RA OSMR Baf3 Cell Line
Anti-IL31 hIgG1 Antibody(mAb33)	Anti-IL31RA hIgG1 Antibody(NA633)
Anti-IL31RA hIgG2 Antibody(Nemolizumab)	Anti-OSMR hIgG4 Antibody(Vixarelimab)
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 Reporter Cell Line	Tango-H_MRGPRX2 CHO-K1 Cell Line
Cynomolgus_MRGPRX2 CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_MRGPRX2 HEK-293 Cell Line
Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 Cell Line	H_MRGPRX2 CHO-K1 Cell Line

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。