一、 产品信息及背景

产品编号	产品名称	规格	数量
GM-C42213	H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line	5E6 Cells/mL	1 管

降钙素基因相关肽家族，包括降钙素（CT, Calcitonin）、胰岛淀粉样肽（AMY, Amylin）、降钙素基因相关肽（CGRP, Calcitonin Gene Related Peptide） 、肾上腺髓质素(AM, Adrenomedullin) 。

Amylin 有三类潜在受体，均是由降钙素受体（CALCR、CTR）和受体活性修饰蛋白（RAMPs）形成的复合物。受体活性修饰蛋白（RAMPs）是一系列 I 型单跨膜蛋白，它们与 G 蛋白偶联受体形成异源二聚体，分为三种亚型：RAMP1，RAMP2 和 RAMP3。它们具有较大的细胞外氨基末端结构域，单个 TM 跨膜结构域和短的∽10 个氨基酸的胞质结构域。这三个 RAMP 具有相似的基本结构，但氨基酸序列中只有约 30%的同一性。CALCR 和 RAMP1 形成的复合物 AMY1， CALCR 和 RAMP2 形成的复合物 AMY2， CALCR 和 RAMP3 形成的复合物 AMY3。

Amylin 由胰腺产生，并作为激素发挥作用，调节营养摄入。 Amylin 神经元沉积的研究主要集中在 Amylin 在阿尔茨海默病中的作用。

吉满生物 H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin 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 CALCR/RAMPs 结合后， 招募下游的融合荧光素酶报告基因的 β-Arrestin，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。

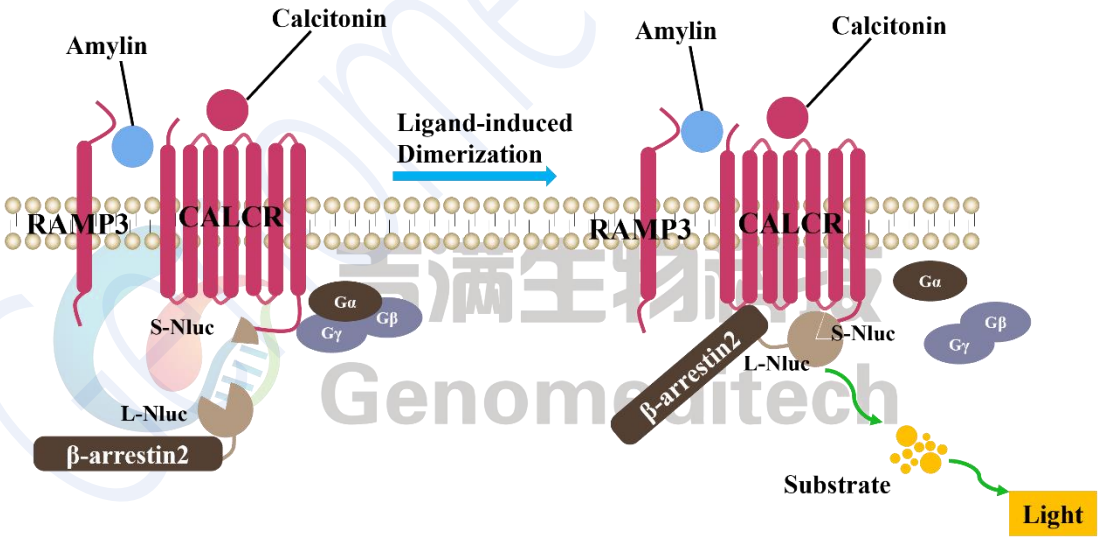
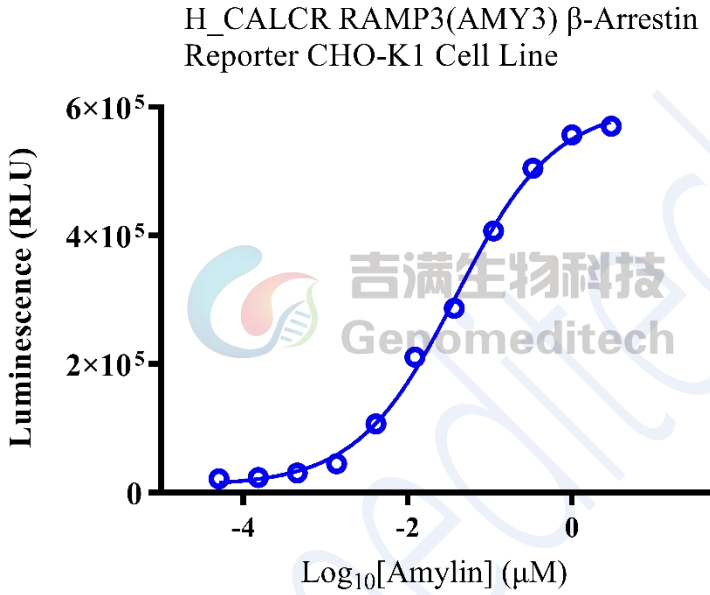


Fig 1 原理示意图

二、 包装、运输及储存

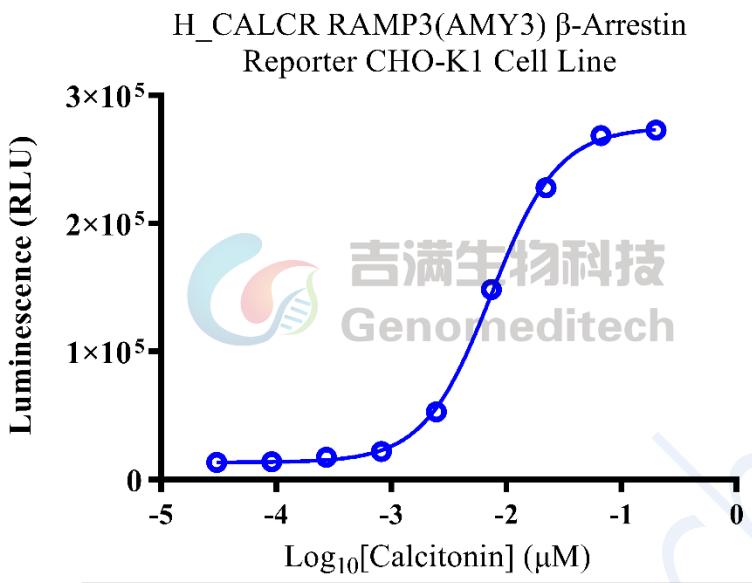
1. 细胞系产品干冰运输，–196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
2. 接触产品请带手套。请收到产品立即确认产品是否为冻存状态，–196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
3. 本产品相关实验，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、 验证结果



	H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin
EC50	0.03905

Fig 2. 制备 Amylin (GenScript/RP11278CN) 梯度稀释液；提前 16-24 h 准备 H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line（Genomeditech/# GM-C42213），每孔细胞量 1×10^4 个。将过夜培养的细胞吸弃上清，加入稀释好的 Amylin 溶液，孵育 6 h 后检测。



	H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin
EC50	0.007396

Fig 3. 制备 Calcitonin salmon（GLPBIO/GC32851）梯度稀释液；提前 16-24 h 准备 H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line（Genomeditech/# GM-C42213），每孔细胞量 1×10^4 个。将过夜培养的细胞吸弃上清，加入稀释好的 Calcitonin 溶液，孵育 6 h 后检测。

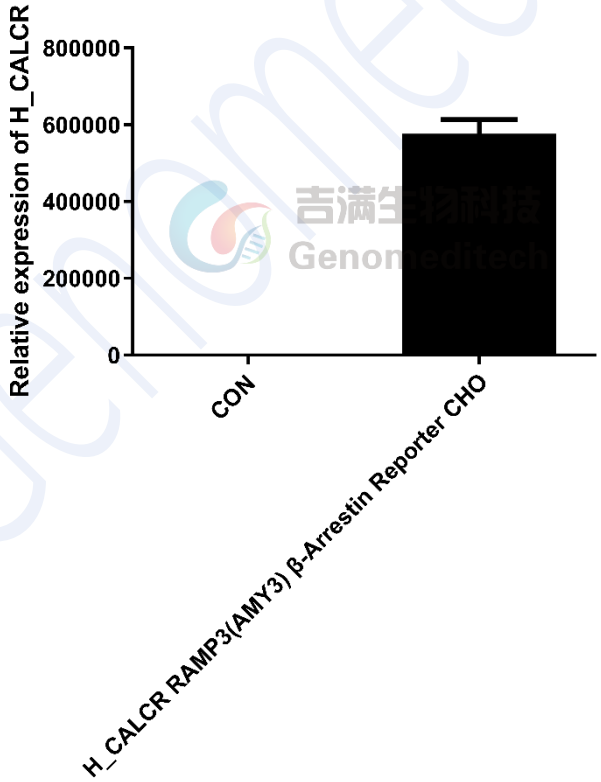


Fig 4. H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line（Genomeditech/GM-C42213）使用 RT 验证 H_CALCR 的表达。

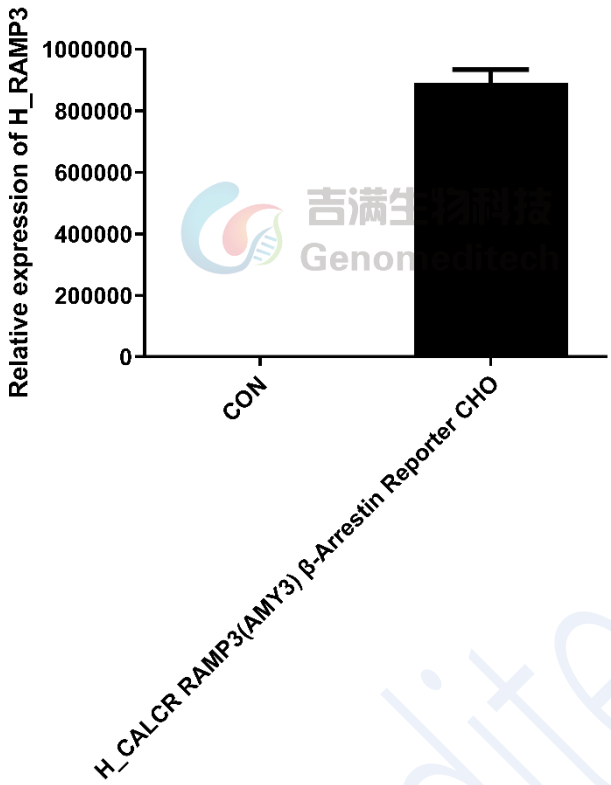


Fig 5. H_CALCR RAMP3(AMY3) β-Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line（Genomeditech/GM-C42213）使用 RT 验证 H_RAMP3 的表达。

四、 培养条件及试剂材料

细胞复苏培养基：	F12K+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基：	F12K+10% FBS+1% P.S+200 μg/mL G418+4 μg/mL Puromycin
Assay Buffer：	F12K+1% FBS+1% P.S

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
F12K	500 mL	BOSTER/PYG0036
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
G418	1 g	Genomeditech/GM-040402-1
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
96 Well Clear V-Bottom Tissue Culture	96-well	Corning/3894
96 well round well culture plate	96-well	NEST/701001
96 well White Flat Bottom Polystyrene Not Treated Microplate	96-well	Corning/3912
Amylin,human,amid	0.5 mg	GenScript/RP11278CN
Calcitonin salmon	1 mg	GLPBIO/GC32851

五、 细胞复苏、传代、冻存

细胞复苏

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 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，活细胞≥ 3 × 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 2-3 × 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。

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 × 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℃下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

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。

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。推荐细胞传代比例为 1:4-1:5，2-3 天传代。

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%）。

注意事项：

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。

b) FBS 血清需 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。

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)	
GLP1R	
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	
Anti-GLP1R hIgG1 Antibody(mAb-36986)	Anti-H_GLP1R hIgG1 Antibody(glutazumab)
FGFR1	
H_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)	
GIP:GIPR	
H_GIPR Reporter CHO-K1 Cell Line	H_GIPR Reporter HEK-293 Cell Line
H_GIPR Reporter HEK-293 DDX35TM 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	Activin A Reporter Cell Line
BRE Reporter 293 Cell Line	H_ACVR2A Reporter Cell Line
H_ACVR2B Reporter Cell Line	ACVR2B KO HEK-293 Cell Line
H_ACVR2A HEK-293(ACVR2B KO) Cell Line	H_ACVR2B CHO-K1 Cell Line
H_ACVR2B HEK-293(ACVR2A KO) Cell Line	
Anti-ACVR2B hIgG1 Antibody(Bimagrumab)	Anti-ACVR2B hIgG1 Antibody(Fab-17G05)
Anti-ACVR2B mIgG2a Antibody(Bimagrumab)	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 RAMP3(AMY3) Reporter CHO-K1 Cell Line	H_CALCR Reporter CHO-K1 Cell Line
Rat_CALCR Reporter COS-7 Cell Line	
MC4R	
H_MC4R Reporter HEK-293 Cell Line	
ASGR1	
H_ASGR1 CHO-K1 Cell Line	H_ASGR1 HEK-293 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。