

产品手册

Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 Cell Line

Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 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、	材料准备	3
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备	3
2.	试剂耗材准备	3
四、	细胞复苏、传代、冻存	4
1.	细胞复苏	4
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）	4
3.	细胞冻存	4
五、	验证结果	5
1.	流式检测蛋白表达	5
附录 1	Flag-Rat_Mrgprb3 氨基酸序列（F1LLV4）	6
相关产品		7
使用许可协议：		8

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-C41122	Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C41122	Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 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. 本产品相关实验，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、材料准备

1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基:	DMEM+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	DMEM+10% FBS+1% P.S+0.75 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.
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
DMEM	500 mL	Gibco/C11995500BT
Anti-Flag mIgG1 Antibody	/	Genomeditech/GM-30726AB

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

四、 细胞复苏、传代、冻存

1. 细胞复苏

注：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。

- 37 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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。

- 细胞为上皮细胞，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况，当细胞密度达到 80%，需要进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:3-1:4，2-3 天传代。注意保持密度不超过 80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。
- 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 $^{\circ}\text{C}$ 消化 30-60 s，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。

注意事项：

- 细胞刚复苏，死细胞较多，属于正常现象，经调整会有明显好转，状态稳定后，传代后死细胞会变少，细胞生长速度趋于稳定。
- 注意保持密度不超过 80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。
- FBS 血清需 56 $^{\circ}\text{C}$ 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。

五、 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Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 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Flag-Rat_Mrgprb3 HEK-293 Cell Line，取100 μ L细胞悬液（细胞计数后用PBS调整浓度为 2×10^6 cells/mL），加入适量的表面抗体（Anti-Flag mIgG1 Antibody），4℃避光孵育1 h。
- 加入1-2 mL PBS冲洗，重复此步骤。
- 加入荧光标记的二抗，4℃避光孵育30 min。
- 1000 rpm离心5 min，去除上清，用300 μ L PBS重悬。
- 立即上机检测。
- 验证结果。

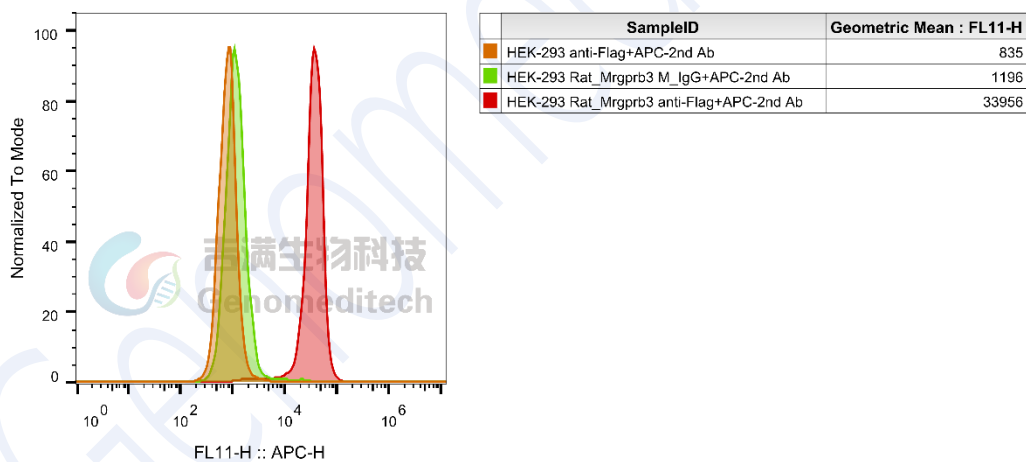


Fig.流式验证结果

附录 1 Flag-Rat_Mrgprb3 氨基酸序列 (F1LLV4)

DYKDDDDKSGSGMEERNISEMLRVDSKILNSTAVNESAPGMFFCVVVFNRMILLSFIVALV
GLVGNATVLWFLGFQMPRNAFSVYILNLAGADFLCICFHIGHLYLNILDTDSIPIEVPAAFT
VVRNFAYLCGLSILSAISLERCLSVLWPIWYRCQRPRHTSVVICTLLWVMSLVLSLEGKE
CGFIFSLSGSHWCPIFD FITTAWLIILFVLLL VSSLALVITIFCGLHRIPVTRLCVAIVL TVMV
FLLFGLPYGIYWFLLEWIEGFNYIFLC SFYSVALFLSCVNGCANPIIYFLVG AIRHHRFQRKS
LKLLLQQAMQDTPETEECIEMGSSERSREIKNSLEETKSCFDQS

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
H_MRGPRX2 CHO-K1 Cell Line	H_MRGPRX2 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。
- 接收方不得向任何其他实体（包括其关联机构）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，须另行获得吉满生物科技（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