

一、 产品信息及背景

产品编号	产品名称	规格	数量
GM-C38145	H_cMET: cMET Dimerization U2OS Cell Line	4E6 Cells/mL	1 管

cMET 蛋白（也称为 MET 或 HGF 受体）是一种酪氨酸激酶受体，由一个外部配体结合域、一个跨膜域和一个细胞内酪氨酸激酶域组成。主要配体为肝脏细胞分泌的肝细胞生长因子（HGF）。cMET 通过与 HGF 结合促进细胞增殖，参与组织的生长和修复。cMET 在多种生物过程中发挥重要作用，包括细胞增殖、迁移、存活和形态发生。

吉满生物的 H_cMET: cMET Dimerization U2OS Cell Line 采用荧光素酶片段互补（EFC）技术进行检测。该技术通过激动剂引发受体的二聚化，使两个荧光素酶片段互补结合，形成一个活性荧光素酶复合物。当加入荧光素酶底物后，这个复合物能够催化底物反应，产生可检测的发光信号。这种方法不仅灵敏度高，而且能够在细胞内环境中实时监测受体的相互作用和功能变化，为药物筛选和生物学研究提供了强有力的工具。

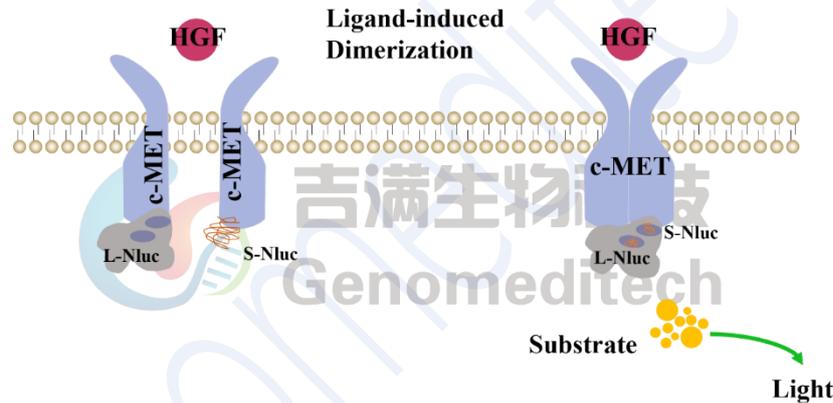


Fig 1 原理示意图

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

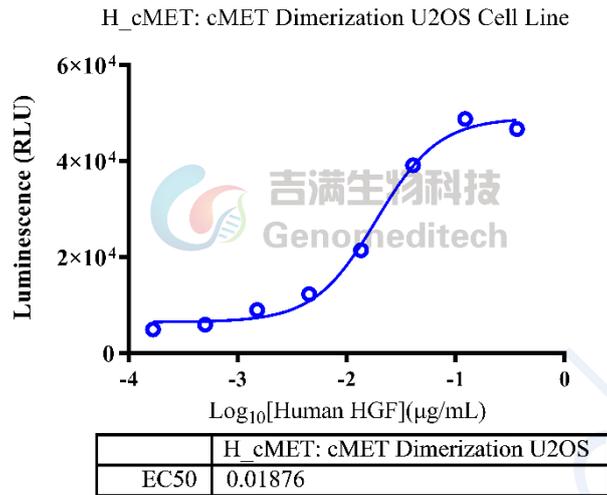


Fig 2. 制备 Recombinant Human HGF (novoprotein/CJ72) 梯度稀释液；提前 16-24 h 配置 H_cMET: cMET Dimerization U2OS Cell Line (Genomeditech/# GM-C38145)，每孔细胞量 1.5×10^4 个。将过夜培养的细胞吸弃上清，加入稀释好的 Human HGF 溶液，孵育 6 h 后检测。

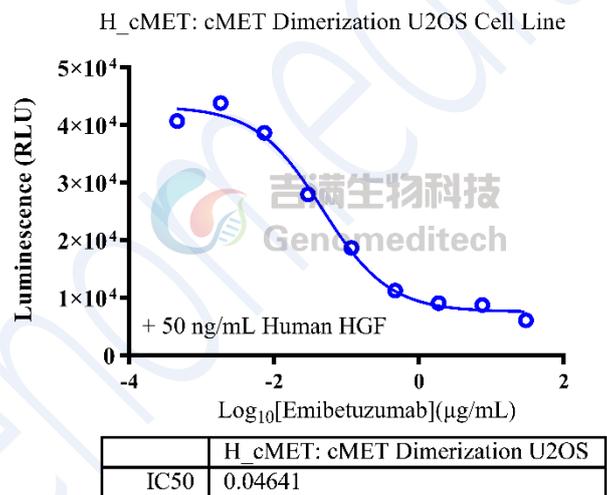


Fig 3. 制备 Anti-H_HGFR(Met) hIgG4 Antibody(Emibetuzumab)(Genomeditech/# GM-28859AB) 梯度稀释液；提前 16-24 h 配置 H_cMET: cMET Dimerization U2OS Cell Line (Genomeditech/# GM-C38145)，每孔细胞量 1.5×10^4 个。将过夜培养的细胞吸弃上清，先加入 Emibetuzumab 梯度稀释液孵育 1h；然后再加入 Recombinant Human HGF (novoprotein/CJ72) 溶液，继续孵育 6 h 检测。

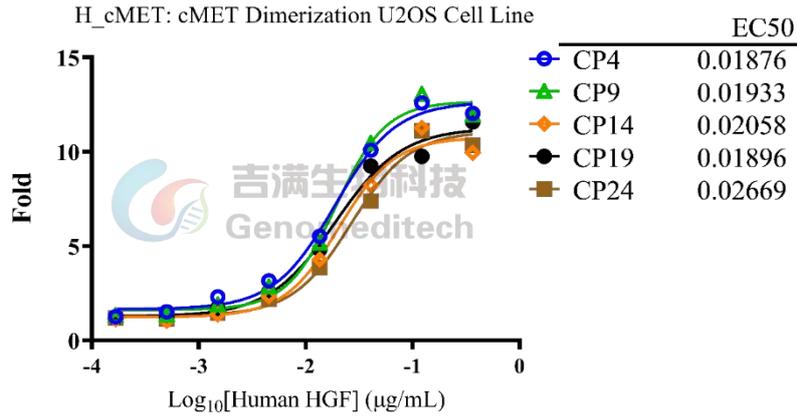


Fig 4. 制备 Recombinant Human HGF (novoprotein/CJ72) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 配置 H_cMET: cMET Dimerization U2OS Cell Line (Genomeditech/# GM-C38145) 各代次细胞, 每孔细胞量 1.5×10^4 个。将过夜培养的细胞吸弃上清, 加入稀释好的 Human HGF 溶液, 孵育 6 h 后检测。

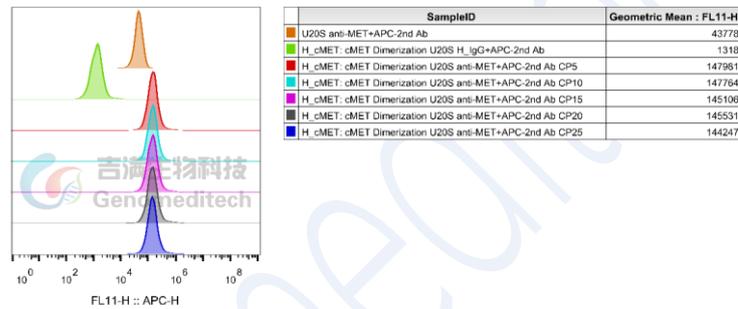


Fig 5. 使用 Anti-H_HGFR(Met) hIgG4 Antibody(Emibetuzumab)(Genomeditech/# GM-28859AB)流式验证结果

四、 培养条件及试剂材料

- 细胞复苏培养基: McCoy's 5A+10% FBS +1% P.S
 细胞生长培养基: McCoy's 5A+10% FBS+1% P.S+0.5 µg/mL Puromycin
 Assay Buffer: McCoy's 5A+1% FBS+1% P.S

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
McCoy's 5A	500 mL	Viva Cell/C3020-0500
Fetal Bovine Serum	500 mL	Cegrogen biotech/A0500-3010
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
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	96-well	Corning/3912
Microplate		
Recombinant Human HGF (C-6His)	10 µg	Novoprotein/CJ72
Anti-H_HGFR(Met) hIgG4 Antibody(Emibetuzumab)	/	Genomeditech/GM-28859AB

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 × g,离心 5 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 1.5- 2.5×10^5 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 × 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,当细胞密度大于 80%,即可进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:3-1:4, 2-3 天传代。
- 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,细胞开始脱离瓶壁时,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。
- 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:

- 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。
- 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。

相关产品清单:

C-MET:HGF	
Cynomolgus_cMET CHO-K1 Cell Line	H_cMET CHO-K1 Cell Line
H_cMET HEK-293 Cell Line	
Anti-H_HGFR(Met) hIgG4 Antibody(Emibetuzumab)	

使用许可协议:

吉满生物将其许可材料的所有知识产权，独占的、不可转让的和不可发放分许可的权利授予给被许可人；吉满生物将保留许可材料、细胞系历史包、子代、包括修改材料中许可材料的所有权。

在吉满生物和被许可方之间，被许可方不允许以任何方式修改细胞系。被许可方不得分享、分发、出售、再授权或以其他方式将被许可材料、子代提供给其它实验室、部门、研究机构、医院、大学或生物技术公司等第三方非基于外包被许可人的研究目的而使用。

详情请参考吉满细胞系授权协议。