

## 一、产品信息及背景

| 产品编号      | 产品名称                                                | 规格           | 数量  |
|-----------|-----------------------------------------------------|--------------|-----|
| GM-C38752 | H_GLP1R $\beta$ -Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line | 5E6 Cells/mL | 1 管 |

GLP-1 受体 (GLP-1R) 是一种位于胰腺细胞和大脑神经元上的 G 蛋白偶联受体, 由 6 号染色体上的 GLP1R 基因编码, 属于胰高血糖素受体家族。激活 GLP-1R 会刺激腺苷酸环化酶 (AC) 通路, 增加细胞内 cAMP 水平, 激活蛋白激酶 A (PKA), 从而促进胰岛素的合成与释放, 因此 GLP-1R 是糖尿病治疗药物 (GLP-1R 激动剂) 的重要靶标。此外, GLP-1R 也参与大脑中的食欲调控。

当 GPCR 被激动剂激活后, 其胞内 C 端尾部及特定磷酸化环会被 G 蛋白偶联受体 (GRK) 磷酸化, 改变受体构象并暴露出与  $\beta$ -arrestin 结合的位点。 $\beta$ -arrestin 在静息状态下处于自抑制构象, 磷酸化后其 C 端尾部从 N 端释放, 暴露出结合位点。 $\beta$ -arrestin 通过其 C 端结构域自发结合到细胞膜的脂质双分子层, 并通过横向扩散与膜上的 GPCR 短暂相互作用, 随后在配体激活下,  $\beta$ -arrestin 与受体在细胞膜上的驻留时间显著延长, 促进其向网格蛋白包被小窝 (CCPs) 的共定位, 最终触发受体内吞。这一过程不仅介导 GPCR 脱敏和内化, 还可通过支架功能激活非 G 蛋白依赖的信号通路。

吉满生物的 H\_GLP1R  $\beta$ -Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line 报告基因细胞系, 是基于 Arrestin 信号通路构建的一种 Luciferase 报告基因细胞系。当 GLP-1(7-37) 与 GLP1R 结合后, 招募下游的融合荧光素酶报告基因的  $\beta$ -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。

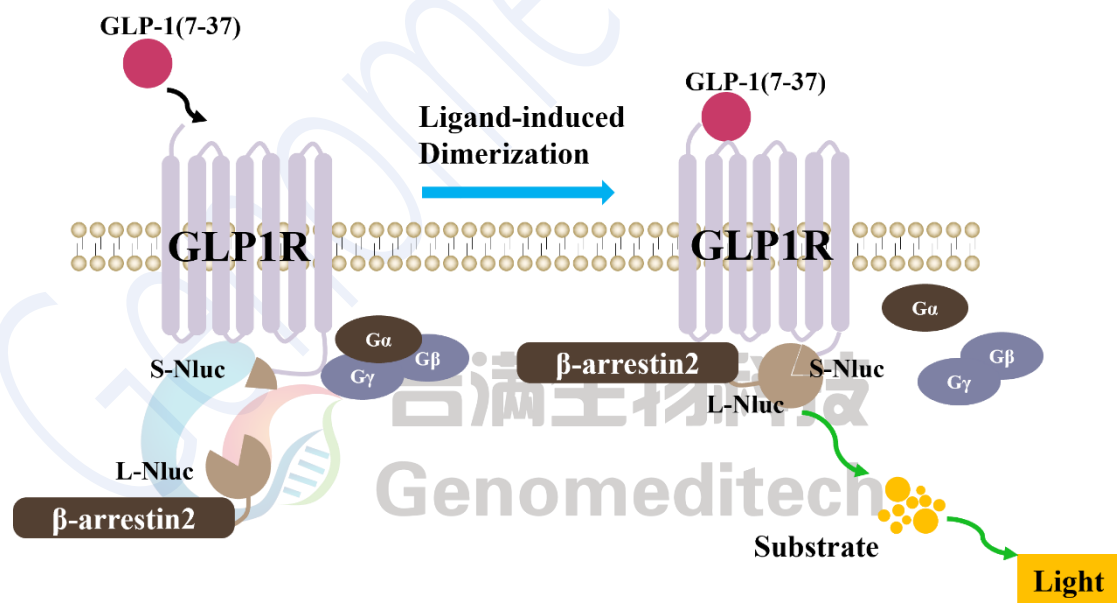


Fig 1 原理示意图

## 二、包装、运输及储存

1. 细胞系产品干冰运输,  $-196^{\circ}\text{C}$  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,  $-196^{\circ}\text{C}$  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

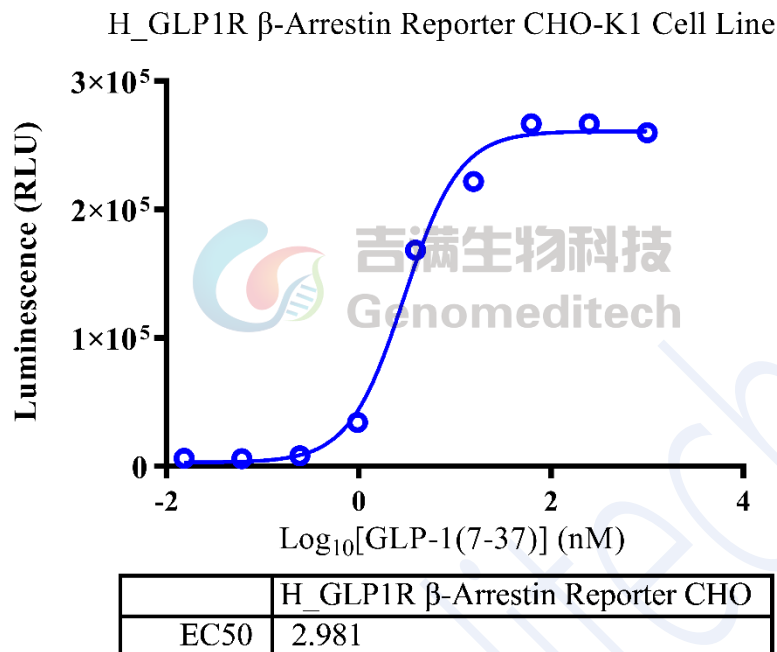


Fig 2. 制备 GLP-1(7-37) (MCE/HY-P0055A) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 准备 H\_GLP1R  $\beta$ -Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line (Genomeditech/# GM-C38752), 每孔细胞量  $1 \times 10^4$  个。将过夜培养的细胞吸弃上清, 加入稀释好的 GLP-1(7-37)溶液, 孵育 16 h 后检测。

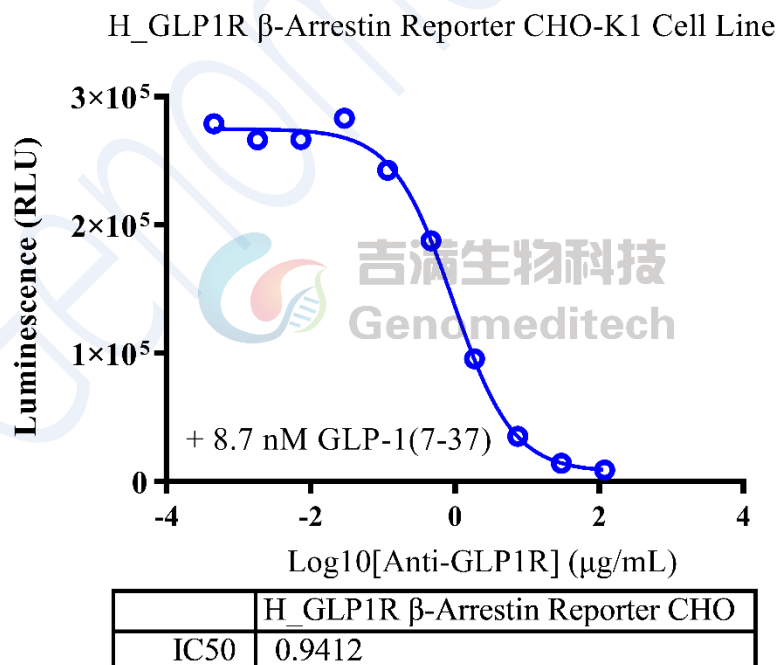


Fig 3. 制备 Anti-GLP1R hIgG1 Antibody(mAb-36986) ( Genomeditech/# GM-51168AB) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 配置 H\_GLP1R  $\beta$ -Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line (Genomeditech/# GM-C38752), 每孔细胞量  $1 \times 10^4$  个。将过夜培养的细胞吸弃上清, 先加入 Anti-GLP1R 梯度稀释液孵育 1h; 然后再加入 GLP-1(7-37) (MCE/HY-P0055A) 溶液, 继续孵育 16 h 检测。

#### H\_GLP1R $\beta$ -Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line

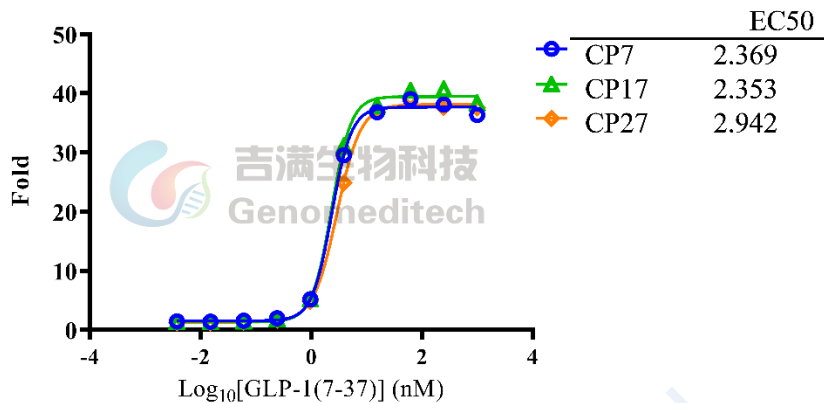


Fig 4. 制备 GLP-1(7-37) (MCE/HY-P0055A) 梯度稀释液; 提前 16-24 h 准备 H\_GLP1R  $\beta$ -Arrestin Reporter CHO-K1 Cell Line (Genomeditech/# GM-C38752) 各代次细胞, 每孔细胞量  $1 \times 10^4$  个。将过夜培养的细胞吸弃上清, 加入稀释好的 GLP-1(7-37)溶液, 孵育 16 h 后检测。

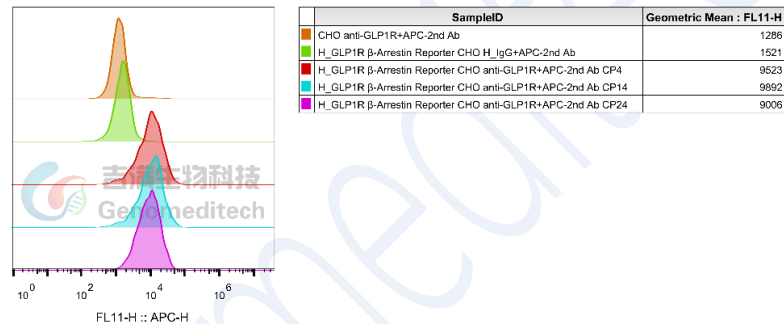


Fig 5. Anti-GLP1R hIgG1 Antibody(mAb-36986) ( Genomeditech/# GM-51168AB)流式稳定性验证

## 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+4 $\mu$ g/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           |
| 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                                        |               |                            |
| GLP-1(7-37)                                       | 1 mg          | MCE/HY-P0055A              |
| Anti-GLP1R hIgG1 Antibody(mAb-36986)              | /             | Genomeditech/GM-51168AB    |
| Anti-H_GLP1R hIgG1 Antibody(glutazumab)           | /             | Genomeditech GM-84914AB    |

## 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  $2-3 \times 10^5$  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 × 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  $5 \times 10^6$  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。
- 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 × 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:**

- 细胞状态稳定后,传代后死细胞会变少,细胞增长速度趋于稳定,细胞形态均匀,胞体健壮。
- 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:

| 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     | Cynomolgus_GLP1R HEK-293 Cell Line                |
| H_GLP1R CHO-K1 Cell Line                       | H_GLP1R HEK-293 Cell Line                         |
| Mouse_GLP1R HEK-293 Cell Line                  |                                                   |
| Anti-GLP1R hIgG1 Antibody(mAb-36986)           | Anti-H_GLP1R hIgG1 Antibody(glutazumab)           |
| FGF21                                          |                                                   |
| H_FGF21 Reporter HEK-293 Cell Line             |                                                   |
| 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 HEK-293 Cell Line                 |
| H_GIPR CHO-K1 Cell Line                        | H_GIPR HEK-293 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 B Protein; His Tag                  |
| Human ACVR2A Protein; hFc Tag                  | 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 |

## 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。