

产品手册

H_HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line

H_HER2 HER4 Reporter 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：V2.12.3

目录

一、	产品基本信息及组分.....	3
二、	包装、运输及储存.....	3
三、	产品描述.....	4
四、	材料准备.....	5
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	5
2.	试剂耗材准备.....	5
五、	细胞复苏、传代、冻存.....	6
1.	细胞复苏.....	6
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）.....	6
3.	细胞冻存.....	6
六、	使用方法（示例）.....	7
1.	验证实验.....	7
1)	加样步骤.....	7
2)	报告基因检测.....	8
3)	验证结果.....	8
附录 1:	流式验证结果.....	9
附录 2:	功能稳定性验证结果.....	9
相关产品.....		10
使用许可协议:		11

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-C34194	H_HER2 HER4 Reporter 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-C34194	H_HER2 HER4 Reporter 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 Assay，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、 产品描述

HER2（人类表皮生长因子受体2型）和HER4（人类表皮生长因子受体4型）都是表皮生长因子受体家族的成员。在癌症，尤其是乳腺癌的研究中，HER2因其在某些肿瘤中过度表达而受到广泛关注。

HER2受体的过表达与细胞增殖、存活及侵袭性增强相关。HER2阳性的乳腺癌通常预后较差，但针对HER2的靶向治疗（如曲妥珠单抗）显著改善了患者的治疗效果。HER4在临床上相对较少被研究。它的作用相对复杂，可能在某些情况下起到抗肿瘤的作用，但在其他情况下也可能促进肿瘤发生。同时靶向HER2和HER4可能帮助克服单靶点治疗的耐药性，提高治疗效果。尤其在HER2阳性且HER4也表达的肿瘤中，双靶点治疗可能更具意义。

吉满生物的H_HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line是一种Luciferase报告基因细胞系，配体结合HER2、HER4受体后，可以激活下游信号通路，随后通过测定荧光信号确定荧光素酶的表达，间接评估配体对信号通路的影响程度，从而达到判断配体结合受体的验证效果。

注意：测试表明，随着传代次数的增加，细胞的功能表现会逐渐下降。建议在第9代（P9）以内使用细胞，以获得最佳检测结果。收到细胞后，强烈建议在早期代次（如P3–P5）时扩增并冻存一定数量的工作细胞库，以确保长期实验数据的一致性，并降低因传代引起的性能差异。

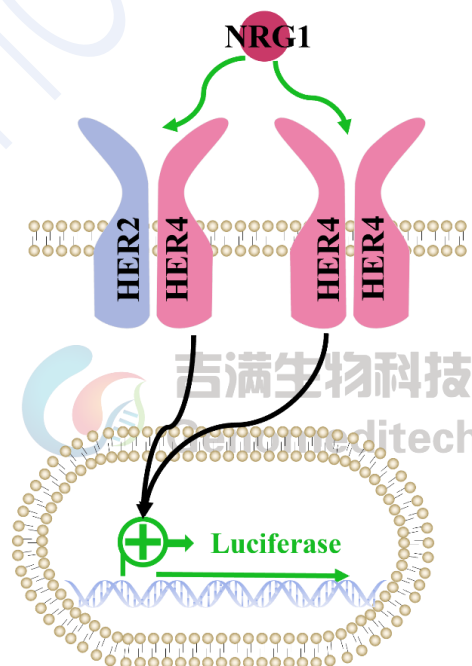


Fig 1.作用原理

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:	DMEM+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	DMEM+10% FBS+1% P.S+4 $\mu\text{g/mL}$ Blasticidin+400 $\mu\text{g/mL}$ G418+125 $\mu\text{g/mL}$ Hygromycin+0.75 $\mu\text{g/mL}$ Puromycin
细胞冻存液:	90% FBS+10% DMSO
Assay Buffer:	DMEM+1% FBS+1% P.S

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
Blasticidin	10 mg	Genomeditech/GM-040404-1
G418 Sulfate	1 g	Genomeditech/GM-040402-1
Hygromycin	1 g	Genomeditech/GM-040403-1
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
96 well round cell culture plate	Plate	PakGent/CL-PT096
96-well White Opaque Plate	Plate	Thermo/236108
96-well U-bottom Plate	Plate	Saining/1014010
NRG1 Beta 1 Protein, Human, Recombinant (ECD)	10 μg	SinoBiological/11609-HNCH
Anti-H ₂ HER2 hIgG1 Antibody(Margetuximab)	/	Genomeditech/GM-49468AB
Anti-HER4 hIgG1 Antibody(HE4B-27)	/	Genomeditech/GM-87686AB
GMOne-Step 2.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit	1000T	Genomeditech/GM-040513C

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
酶标仪	Moleculardevices/SpectraMax L

五、 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 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 \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。
- 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 30-40%）。

注意事项：

- 细胞刚复苏，会有一些比例的死细胞，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 需 56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 分钟，可热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。

六、使用方法（示例）

1. 验证实验

操作步骤可调整优化,对于本实验,推荐 H₂HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line 细胞量为 1.5×10^4 Cells/孔。本次实验使用 NRG1 Beta 1 Protein, Human, Recombinant (ECD) (26.8 kDa) 作为阳性药物; Conc.01 终浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$, 3 倍梯度稀释, Conc.01-Conc.09 分别排布在 B2-B10, B11 为 0 浓度对照。周围孔加入 100 μL PBS, 以防止边孔蒸发。

孔板布局:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
B	Human NRG1	1 $\mu\text{g/mL}$	333.33 ng/mL	111.11 ng/mL	37.04 ng/mL	12.35 ng/mL	4.12 ng/mL	1.37 ng/mL	457.25 pg/mL	152.42 pg/mL	0	PBS
C	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D												
E												
F												
G												
H												

1) 加样步骤

- 实验前 16-24 h, 离心收集 H₂HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line, 以完全培养基重悬细胞, 计算细胞密度及活力, 通过补加完全培养基的方式, 调整细胞浓度到 1.5×10^5 cells/mL, 以排枪加 100 μL 细胞/孔至中间孔。周围的孔加 100 μL PBS。盖上市盖, 于孵箱中孵育过夜。
- 使用 1 个无菌 96 孔 U 底板准备药物稀释。
- 每个待测抗体, 使用一行 (如 B2-B10)。
- 母液配置

药物名称	储液	母液	配置方法
Human NRG1	0.15 mg/mL	/	直接使用储液

- 96 孔 V 底板中, 加入 Assay Buffer, 各孔体积见下表, 如 B2 孔加入 163.9 μL Assay Buffer, B3-B11 孔, 加入 110 μL Assay Buffer。

- f) 吸取不同体积的待测样品母液，加入到第一个梯度稀释孔中（如 B2 中加入 1.1 μL Human NRG1），混匀。

	母液吸取	梯度稀释孔，依次从前孔吸取 55 μL ，加入次孔										对照孔
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	1.1 μL Human NRG1	加入	163.9 μL	110 μL	110 μL	110 μL	110 μL	110 μL	110 μL	110 μL	110 μL	110 μL
C												
D												
E												
F												
G												
H												

- g) 从第一个梯度稀释孔 B2 中吸取 55 μL ，加入到第二个梯度稀释孔 B3，充分混匀。
h) 以此类推，直至第 9 个梯度稀释孔（B10）。
i) 取出步骤 a 孵育过夜的细胞孔板，吸弃上清 100 μL 。
j) 加入步骤 h 准备好的梯度稀释溶液，每孔加入 100 μL 混匀，继续孵育 16 h。
k) 收样，转至 96 孔白底板上机，检测 Luciferase。

2) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

H_HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line	0 $\mu\text{g/mL}$	1 $\mu\text{g/mL}$	152.42 $\mu\text{g/mL}$
	54565	1088875	57038

3) 验证结果

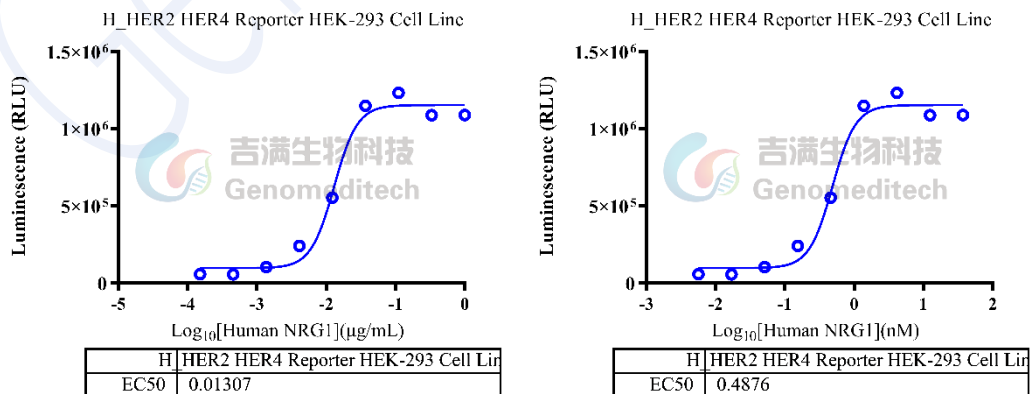


Fig 2. Response to NRG1 Beta 1 Protein. The H_HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line (Cat. GM-C34194) at a concentration of 1.5E4 cells/well (96-well format) was stimulated with serial dilutions of NRG1 Beta 1 Protein (Sino Biological/11609-HNCH) in assay buffer (DMEM + 1% FBS + 1% P.S) for 16 hours. The firefly luciferase activity was measured using the Luciferase Reporter Assay Kit (Genomeditech).

附录 1: 流式验证结果

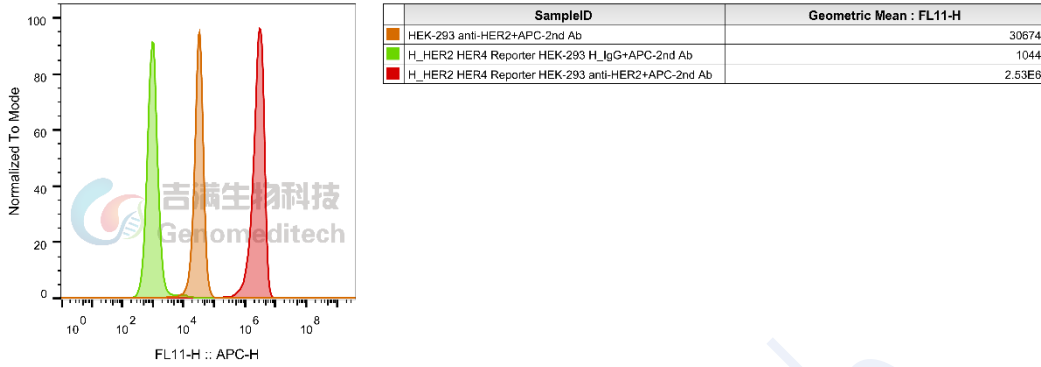


Fig 3. H_HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line (Cat. GM-C34194) was determined by flow cytometry using Anti-H_HER2 hIgG1 Antibody(Margetuximab) (Cat. GM-49468AB).

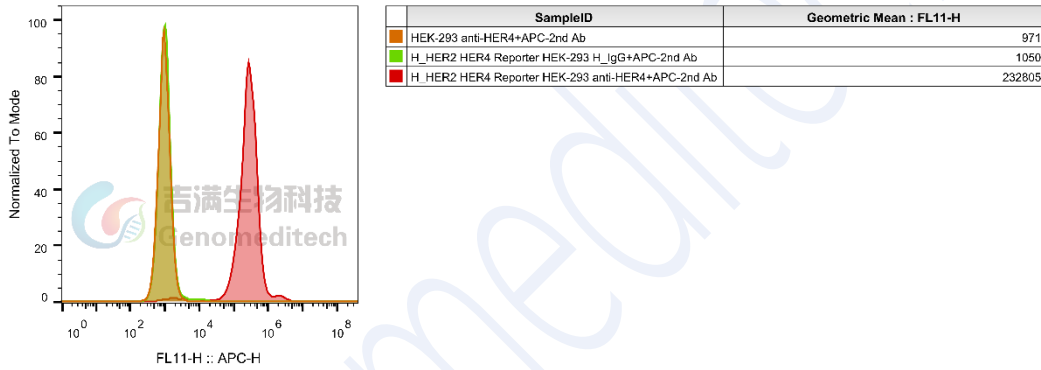


Fig 4. H_HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line (Cat. GM-C34194) was determined by flow cytometry using Anti-HER4 hIgG1 Antibody(HE4B-27) (Cat. GM-87686AB).

附录 2: 功能稳定性验证结果

H_HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line

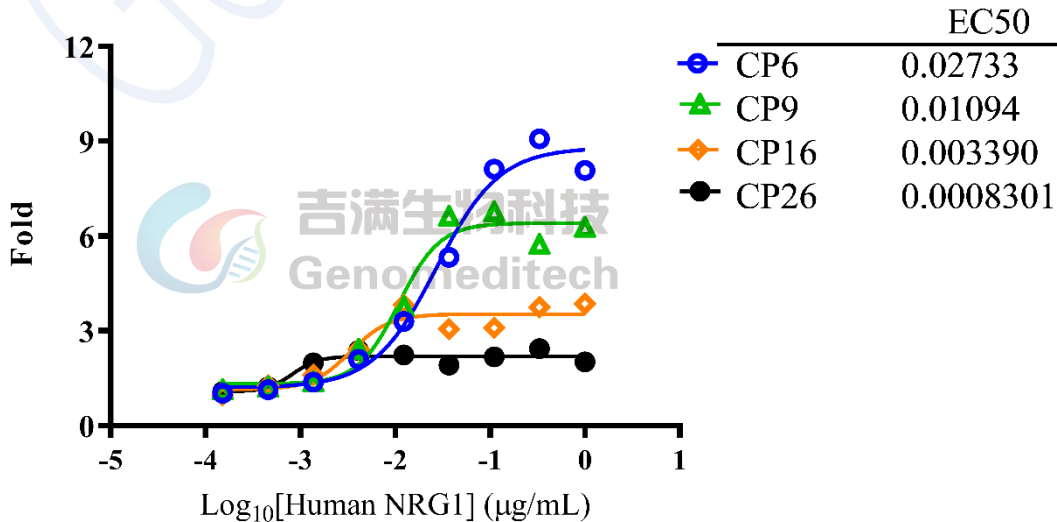


Fig 5. The passage stability of response to NRG1 Beta 1 Protein. The passages 6, 9, 16 and 26 of H₂HER2 HER4 Reporter HEK-293 Cell Line(Cat. GM-C34194) at a density of 1.5E4 cells/well (96-well format) were stimulated with serial dilutions of NRG1 Beta 1 Protein(Sino Biological/11609-HNCH) in assay buffer (DMEM+1% FBS+1% P.S) for 16 hours.

Note: Testing has shown that the reporter activity and functional performance of these cells decrease with increasing passage number. It is recommended to use cells within P9 passages for optimal assay results. Upon receipt, it is strongly recommended to expand and cryopreserve a working cell bank at early passage numbers (e.g., P3–P5) to ensure long-term experimental consistency and minimize passage-related performance variability.

相关产品

HER3(ERBB3)	
Cynomolgus_ERBB3(HER3) CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_ERBB3(HER3) HEK-293 Cell Line
H_ERBB3(HER3) CHO-K1 Cell Line	H_ERBB3(HER3) HEK-293 Cell Line
H_ERBB3(HER3) MC38 Cell Line	Mouse_HER3(ERBB3) CHO-K1 Cell Line
Anti-ERBB3(HER3) hIgG1 Reference Antibody(Patrimonio)	Anti-H_ERBB3(HER3) hIgG1 Antibody(Barecetamab)
Human HER3 Protein; His Tag	
NECTIN4	
H_NECTIN4(nectin-4) CHO-K1 Cell Line	Cynomolgus_Nectin4 CHO-K1 Cell Line
H_NECTIN4 CT26 Cell Line	H_NECTIN4 HEK-293 Cell Line
H_NECTIN4 LLC1 Cell Line	H_NECTIN4 MC38 Cell Line
Anti-H_Nectin4 hIgG1 Antibody(Enfortumab)	Anti-Nectin4 hIgG1 Reference Antibody (Enfobio)
Biotinylated Cynomolgus Nectin-4 Protein; His-Avi Tag	Biotinylated Human Nectin-4 Protein; His-Avi Tag
Biotinylated Mouse Nectin-4 Protein; His-Avi Tag	Cynomolgus Nectin-4 Protein; His Tag
Human Nectin-4 Protein; His Tag	
SLC39A6 (LIV1)	
Cynomolgus_SLC39A6 CHO-K1 Cell Line	H_SLC39A6 CHO-K1 Cell Line
H_SLC39A6 HEK-293 Cell Line	H_SLC39A6 LLC1 Cell Line
H_SLC39A6 MC38 Cell Line	
Anti-H_SLC39A6 hIgG1 Antibody(Ladiratuzumab)	Anti-SLC39A6 hIgG1 Reference Antibody (Ladbio)
Anti-SLC39A6-MMAE ADC(Dar4)[Ladiratuzumab vedotin]	
HER2(ERBB2)	
Cynomolgus_HER2(ERBB2) CHO-K1 Cell Line	H_HER2 EMT6 Cell Line
H_HER2 HER3 MC38 Cell Line	H_HER2 MCF-7 Cell Line
H_HER2(ERBB2) CHO-K1 Cell Line	H_HER2(ERBB2) CT26 Cell Line
H_HER2(ERBB2) LLC1 Cell Line	H_HER2(ERBB2) MC38 Cell Line
Anti-H_HER2 hIgG1 Antibody(Margetuximab)	Anti-HER2 hIgG1 Reference Antibody(Marbio)
Anti-HER2 hIgG1 Reference Antibody(Trasbio)	
Anti-HER2-DM1 ADC(Dar4)[Trastuzumab emtansine, T-DM1]	Anti-HER2-DXD ADC(Dar8)[Trastuzumab Deruxtecan]
Cynomolgus HER2 Protein; His Tag	Human HER2 Protein; His Tag
ADC Related Product	

Anti-DXD Mouse IgG1 Antibody (23E21C5)	Anti-DXD Mouse IgG1 Antibody (4A5A12)
Anti-Dxd Mouse IgG2a Antibody (17D6A4)	Anti-Eribulin Mouse IgG2a Antibody (10F8G4)
Anti-MMAE Mouse IgG1 Antibody (11C10E3)	Anti-MMAE Mouse IgG2a Antibody (17A1K11)
Anti-MMAE Mouse IgG2a Antibody (8F6A3)	Mouse anti Human IgG-MMAE(Dar4)
Human IgG1 Isotype-DXD (Dar8)	Human IgG1 Isotype-Eribulin (Dar4)
Human IgG1 Isotype-MMAE (Dar4)	
Recombinant DT3C Protein	

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。