

## 技术说明书

### 1. 细胞系信息

细胞系编号	MO0211
代次	P2
细胞系名称	Ba/F3 KIF5B-RET-V804M-G810C
基因 ID	NA
宿主细胞系	小鼠 BaF3 细胞系
细胞类型	原 B 细胞
描述	Ba/F3 克隆, 稳定表达携带 KIF5B-RET-V804M-G810C 突变的外源性人 RET 基因。
数量	5×10 <sup>6</sup> /冻存管
稳定性	稳定培养至少 10 代
应用	药物筛选, 动物药效学活性测试
冻存液	80% RPMI-1640+ 10%FBS + 10% DMSO
培养基	RPMI 1640+10% FBS+1% Pen/Strep
形态	多为单个、圆形悬浮细胞
传代培养	每 3 天以 1: 10 传代培养
培养条件	37°C, 5% CO <sub>2</sub>
存储	用 80%培养基, 10%FBS 和 10%DMSO 在液氮中冷冻
倍增时间	约 20 小时
支原体状态	阴性
生物安全等级	1
储存	接收后立即放入液氮

### 2. 背景

RET 缩写为“转染过程中重排”, 是一种受体酪氨酸激酶, 用于细胞系衍生的嗜神经营养因子 (GDNF) 家族细胞外信号分子的膜。RET 的过度激活与许多癌症有关。RET 作为驱动基因的鉴定导致了抗癌治疗剂的开发。

Ba/F3 细胞, 一种鼠白细胞介素-3 依赖性亲 B 细胞系。是探索激酶及其抑制剂的流行系统, 因为一些蛋白激酶可以使 Ba/F3 细胞依赖于激酶的活化而不是 IL-3 补充剂, 而它们的抑制剂可以拮抗激酶依赖性生长效应。

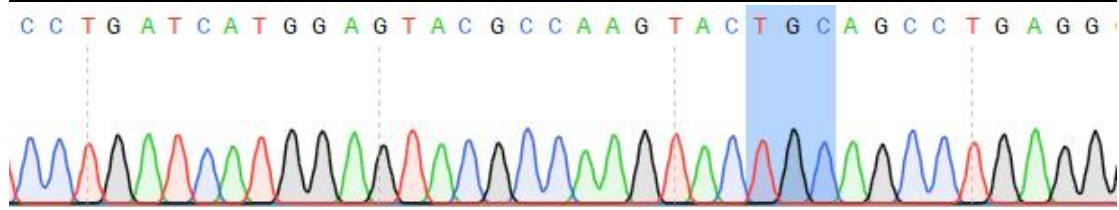
### 3. 细胞系构建方法

Ba/F3 KIF5B-RET-V804M-G810C 细胞系是使用表达人 KIF5B-RET-V804M-G810C 序列的逆转录病毒载体生成的。

### 4. PCR 测序鉴定

V804M-G810C

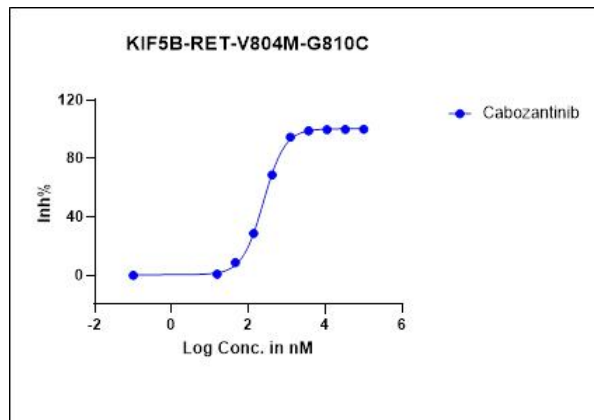
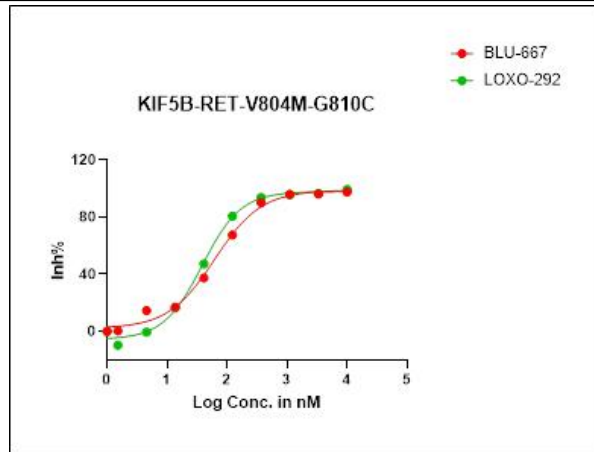
```
GTGCTCCTGATCGTGGAGTACGCCAAGTACGGCAGCCTGAGGGG  
GTGCTCCTGATCATGGAGTACGCCAAGTACTGGCAGCCTGAGGGG
```



## 5. 应用

- a. 基于细胞的激酶抑制筛选
- b. 细胞活力测定
- c. 体内药效研究

compound	Abs.IC50(nM)	Rel.IC50(nM)
BLU667	61.17	62.23
LOXO-292	43.01	38.46
Cabozantinib(100 $\mu$ M 起)	243.99	246.5



## 6. 细胞复苏

1. 在 37°C 水浴锅中预热培养基 (RPMI-1640+10%FBS+1% P/S);
2. 将冷冻管在 37°C 水浴锅中融化;
3. 将冷冻管转移到生物安全柜中, 并用 75%乙醇擦拭表面;
4. 将细胞悬液转移到含有的 9.0 mL 完全培养基的 15 ml 离心管中;
5. 室温下 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液;

- 
6. 用适当体积的完全培养基重悬细胞沉淀，并将细胞悬液转移到 T25 培养瓶；
  7. 将培养瓶置于 37°C 孵育，5 % CO<sub>2</sub> 培养箱中培养；
  8. 每 3 天以 1: 10 传代培养；

#### 7. 细胞冻存

1. 细胞冻存前准备好新鲜的冷冻培养基（80% RPMI-1640+ 10%FBS + 10% DMSO）；
2. 将冷冻培养基放入冰箱预冷；
3. 将培养瓶中细胞转移到离心管中，并计数细胞量；
4. 将细胞在室温下离心 1000 rpm 5 min，弃去上清液；
5. 使用冷冻培养基重悬至  $5 \times 10^6$ /ml 细胞；
6. 将细胞悬液转移到冻存管中，放入程序降温盒；
7. 在 -80°C 冰箱中过夜，转移到液氮中长期储存。