

## 技术说明书

### 1. 细胞系信息

细胞系编号	MO0186
代次	P4
细胞系名称	Ba/F3 FGFR3-TACC3-K650M
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 FGFR3-TACC3-K650M 突变的外源性人 FGFR 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

FGFR3 是成纤维细胞生长因子受体家族的成员, 在有丝分裂和分化中起作用。FGFR3 基因产生各种形式的 FGFR3 蛋白;位置因 FGFR3 蛋白的亚型而异。由于在不同的组织中发现了不同的形式, 因此蛋白质负责多种生长因子相互作用。FGFR3 功能突变的获得抑制软骨细胞增殖, 是软骨细胞发育不全和软骨发育不良的基础

Ba/F3 细胞是一种鼠白细胞介素-3 依赖性亲 B 细胞系, 是探索激酶及其抑制剂的常用系统, 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。

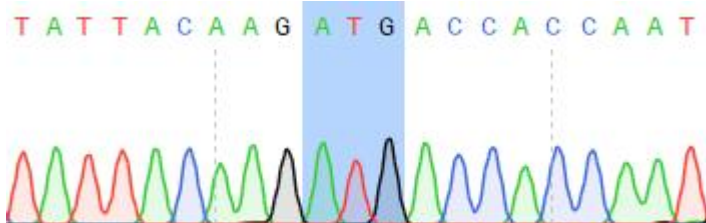
### 3. 细胞系构建方法

Ba/F3 FGFR3-TACC3-K650M 细胞系是使用表达人 FGFR3-TACC3-K650M 序列的逆转录病毒载体生成的。

### 4. PCR 测序鉴定

K650M

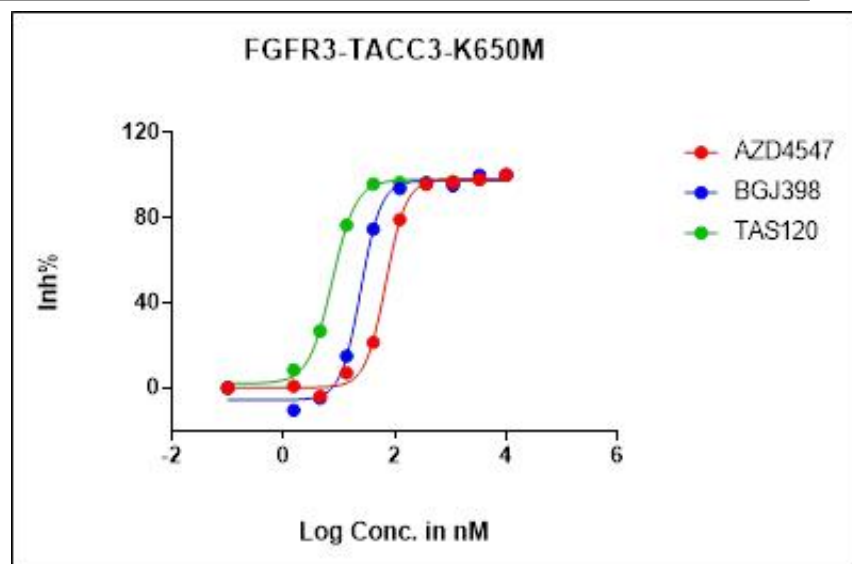
```
AATCTAGACTATTACAAGAAACCACCAATGGCAGGC  
AATCTAGACTATTACAAGATGACCACCAATGGCAGGC
```



## 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)
AZD4547	70.05	69.06
BGJ398	26.19	24.51
TAS-120	7.51	7.51



## 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  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中过夜, 转移到液氮中长期储存。