

技术说明书

1. 细胞系信息

| | |
|--------|--|
| 细胞系编号 | MO0244 |
| 代次 | P2 |
| 细胞系名称 | Ba/F3 EGFR- d746-750 C797A |
| 基因 ID | NM_005228.3 |
| 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 d746-750 C797A 突变的外源性人 EGFR 基因。 |
| 数量 | 5×10 ⁶ /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 ₂ |
| 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

EGFR,表皮生长因子受体,是一种细胞表面受体酪氨酸激酶,并通过结合其特异性配体激活,如表皮生长因子(EGF)和转化生长因子 α (TGF- α),过表达或过度活跃与许多癌症有关,包括肺癌和结肠癌。

EGFR 作为驱动基因的鉴定导致了抗癌治疗剂的发展。包括吉非替尼.埃洛替尼.阿法替尼.奥希替尼(AZD9291)和西妥昔单抗。

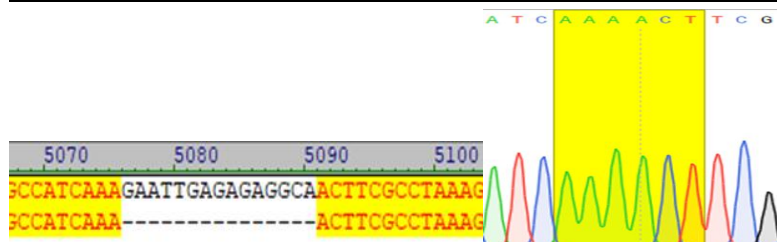
Ba/F3 细胞是小鼠 IL-3 依赖的原 B 细胞系,是研究激酶及其抑制剂的一个流行系统,这是因为一些蛋白激酶可以使 Ba/F3 细胞依赖于激酶的活化而不是 IL-3 的补充,而它们的抑制剂可以拮抗激酶依赖性生长。

3. 细胞系构建方法

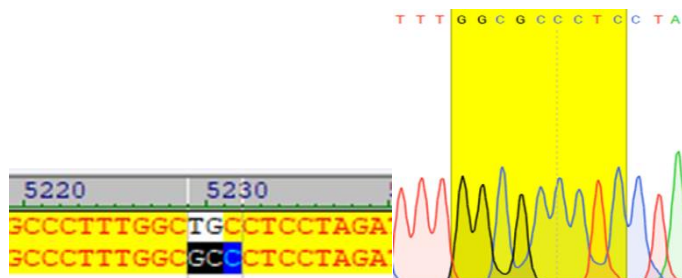
Ba/F3 EGFR- d746-750 C797A 细胞系是使用表达人 EGFR 突变序列的逆转录病毒载体生成的。

4. PCR 产物测序鉴定

d746-750



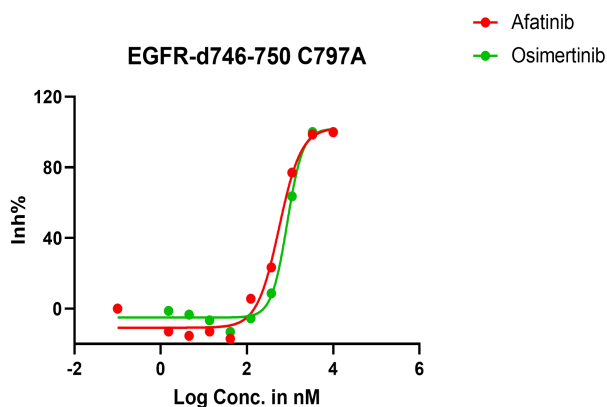
C797A



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) |
|-------------|--------------|--------------|
| Osimertinib | 881.89 | 860.50 |
| Afatinib | 610.11 | 559.30 |



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 % CO₂ 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 1×10^6 /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。