

# **CSF3R (CSF1 Dependent) /BaF3**

## **CBP73229**

# **操作说明书**



4008-750-250

## 目录

1. 背景信息 .....	1
2. 产品介绍 .....	1
3. 细胞基本信息 .....	2
4. 主要仪器试剂耗材 .....	2
5. 细胞培养 .....	3
5.1 细胞复苏 .....	3
5.2 细胞传代 .....	3
5.3 细胞冻存 .....	3
6. 细胞实验流程 .....	3
6.1 Anti-proliferation Assay .....	3
7. 数据展示 .....	5
7.1 增殖抑制实验验证结果 .....	5
8. 相关产品 .....	5

## 1. 背景信息

CSF1R 是一种单程酪氨酸激酶跨膜受体, 属于 III 型蛋白酪氨酸激酶受体家族, 它主要表达在单核细胞和巨噬细胞表面, 通过其活化控制巨噬细胞的生长、功能和分化。CSF1R 主要可以被两种细胞因子 CSF1 (MCSF; CSF-1) 或 IL-34 (IL34) 激活, 形成同源二聚体, 导致其激酶活性被激活, CSF1R 的配体可以激活包括 MAPK/ERK 在内的许多细胞内信号通路。当 ERK 磷酸化时, Elk1 与血清应答因子 (SRF) 形成复合物, 并与血清应答因子 (SRE) 结合, 导致大量有丝分裂诱导基因的表达。这种相互作用可以被许多癌症类型所利用, 如弥漫型腱鞘膜巨细胞瘤 (dt-GCT), 以逃避免疫系统, 通过过度表达细胞因子 CSF1, 驱动肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs) 的发育和存活, 进而抑制肿瘤的局部免疫反应。此外, CSF-1 诱导的巨噬细胞群还与炎症和骨疾病等多种疾病的病理学相关。

## 2. 产品介绍

科佰生物推出 CSF1R (CSF1 Dependent) /BaF3 药靶细胞, 其通过慢病毒转染的方法引入状态的 CSF1R(CSF1 Dependent)基因到 BaF3 细胞系中, 稳定表达人突变形态下 CSF1R(CSF1 Dependent) 基因。见图 1 流式验证 CSF1R 表达。

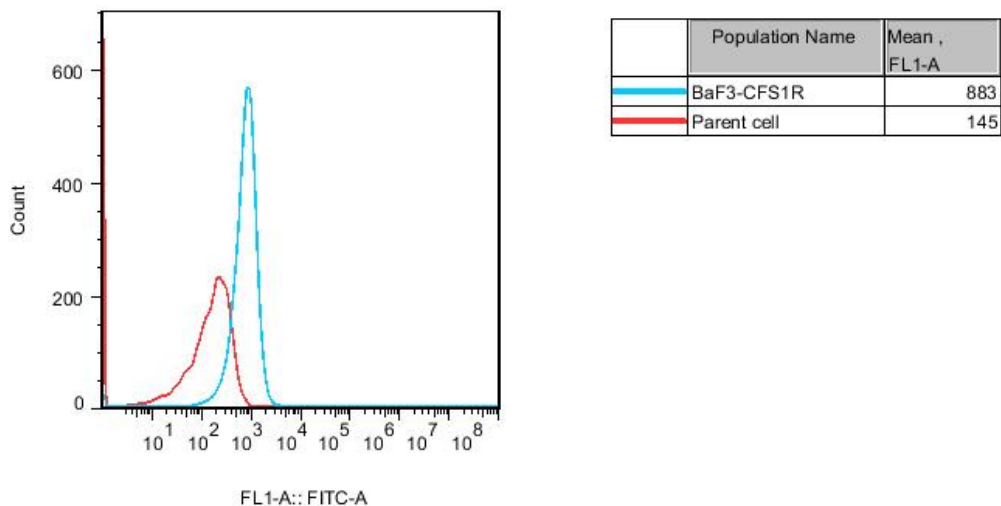


图 1: CSF1R (CSF1 Dependent) /BaF3 细胞表达人 CSF1R

Ba/F3 (小鼠原 B 细胞) 的生长和增殖需要 IL-3 的维持。引入各种表达激酶基因, 这些基因能作为 Ba/F3 的驱动基因, 让 Ba/F3 不再依赖 IL-3 而增殖, 进而激酶基因成为 Ba/F3 增

殖依赖的驱动基因，用于评估小分子药物对激酶的靶向抑制作用。

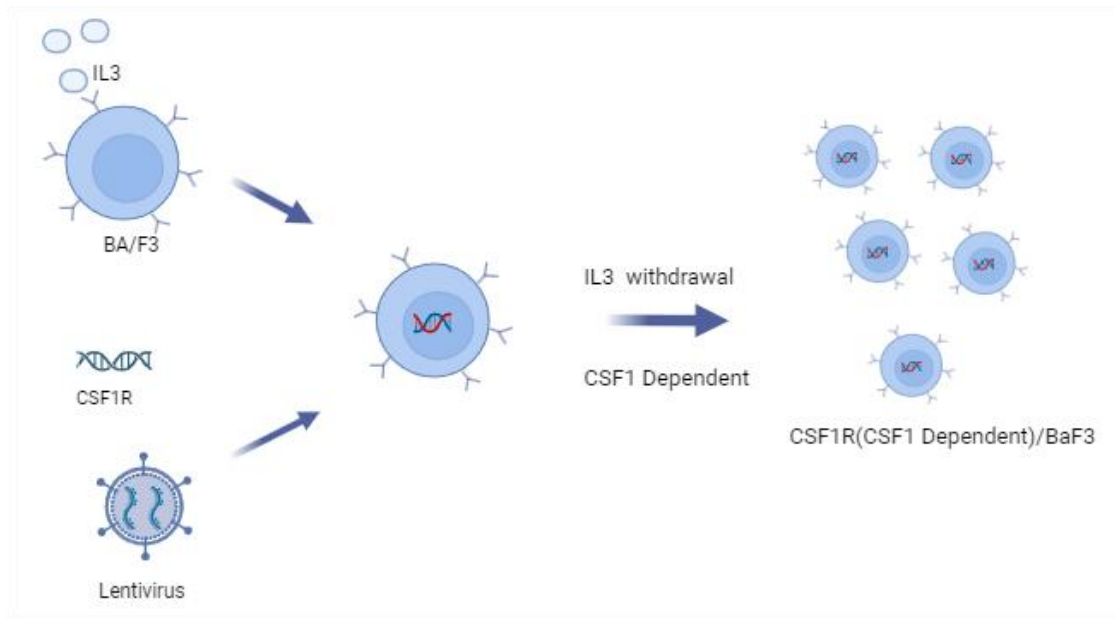


图 2: CSF1R(CSF1 Dependent) /BaF3 细胞构建流程

### 3. 细胞基本信息

母细胞: Ba/F3

表达基因: CSF1R (CSF1 Dependent)

传代培养基: RPMI-1640+10%FBS+0.1ug/ml M-CSF

细胞冻存液: 90% FBS+10% DMSO

细胞形态: 悬浮

支原体检测: 阴性

稳定性: 16 代（室内测试结果，不表示超过 16 代以上不稳定）

保存条件: 液氮保存

### 4. 主要仪器试剂耗材

名称	品牌	货号
CSF1R(CSF1 Dependent) /BaF3 完全培养基	Cobioer	CBP73229M
Recombinant Human M-CSF/CSF1 Protein	Sinobiological	11792-HNAH
细胞冻存液	Cobioer	CBP50089

96 Well Assay Plate (White Plate, Clear Bottom with Lid Tissue Culture Treated Polystyrene 1/Pack)	Costar	3610
细胞活力检测试剂盒	Cobioer	CBPH0004

## 5. 细胞培养

### 5.1 细胞复苏

- 1) 在 37°C 水浴中快速融化细胞约 60 秒。一旦细胞解冻（可能比 60 秒稍快或稍慢），快速将冻存管中的细胞吸入装有 10 ml 预热 CSF1R(CSF1 Dependent) /BaF3 完全培养基的 15 ml 离心管中。
- 2) 1000 转、5 分钟离心细胞，除去培养基并将细胞重悬于 5 ml 预热的完全培养基中。
- 3) 调整细胞密度到  $3-6 \times 10^5$  cells/ml，加入 T25 培养瓶中，放入 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中。

### 5.2 细胞传代

每 1-2 天取细胞悬液计数，当密度大于  $2 \times 10^6$  cells/ml 时,请及时传代或补加新鲜完全培养基。保持细胞密度在  $3 \times 10^5 - 2 \times 10^6$  cells/ml 之间。

### 5.3 细胞冻存

取  $8 \times 10^6$  细胞离心后弃上清。加 1ml 细胞冻存液(90% FBS+10%DMSO)，吹打均匀，加入细胞冻存管。立即放入细胞冻存盒（Nalgene 5100-0001），加异丙醇到刻度线，放-80°C 冰箱。24 小时后将冻存管转到液氮中长期保存。

## 6. 细胞实验流程

### 6.1 Anti-proliferation Assay

此实验由药靶细胞 CSF1R(CSF1 Dependent) /BaF3 细胞,Cat. # CBP73229 开展，本实验使用 AC710、BLZ945 为测试样本，验证本模型的生物功能。

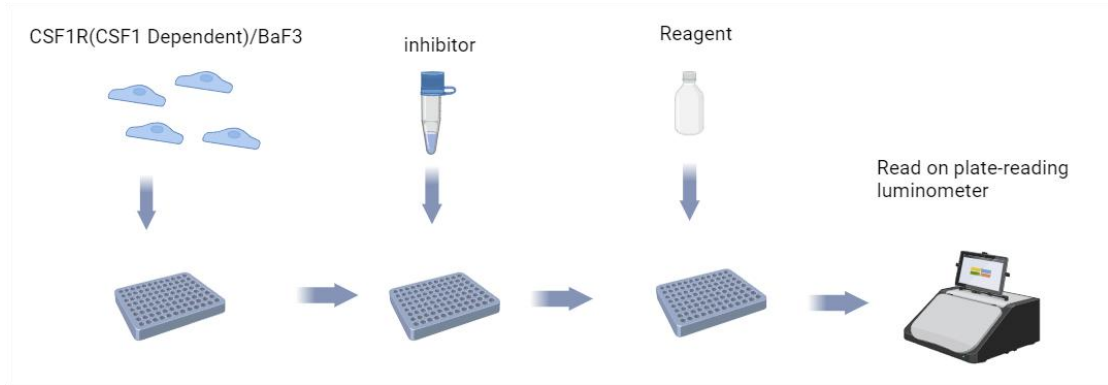


图 3: CSF1R(CSF1 Dependent) /BaF3 增殖抑制实验流程示意图

- 1) 取对数生长的细胞，离心弃培养上清，将离心下来的细胞重悬于新鲜 RPMI1640+10%FBS+100 ng/ml CSF1 培养基中，细胞密度为  $5 \times 10^4$ /ml。
- 2) 将重悬的细胞接种到白壁透明底的 96 孔细胞培养板中，100ul/孔细胞悬液，接种两块培养板，放置 37 度细胞培养箱 4 小时。
- 3) 取出其中一块接种细胞的 96 孔板，加入 100ul/孔细胞活力检测试剂放置 30 分钟，读取数值，定义为 G0 数据。
- 4) 取另一块平行板，加入梯度稀释的 10\*浓度化合物 11.1 ul/孔，化合物从 10uM (96 孔板内 1\*最终浓度) 开始，3 倍稀释 9 个浓度梯度，并另外设置 DMSO 对照孔，继续在 37°C 细胞培养箱培养 72 小时。
- 5) 将化合物处理过 72 小时的 96 孔板从培养箱中取出，加入 100ul/孔细胞活力检测试剂放置 30 分钟，读取数值，定义为 G3 数据。
- 6) 根据以下公式计算每个孔对应的细胞增殖率：
$$\text{Proliferation\%} = \frac{(\text{待测化合物孔 G3} - \text{G0 平均值})}{(\text{DMSO 对照孔 G3 平均值} - \text{G0 平均值})} * 100$$
。
- 7) 根据每个梯度浓度孔对应的增殖率和其浓度，利用 Prism Graphpad 软件拟合细胞增殖的梯度曲线，并且计算化合物的 GI50 (GI50 定义为细胞增殖率为 50%时对应的化合物浓度)。

## 7. 数据展示

### 7.1 增殖抑制实验验证结果

#### CTG Proliferation Assay of BaF3 CSF1R (C40, CSF1 Dependent)

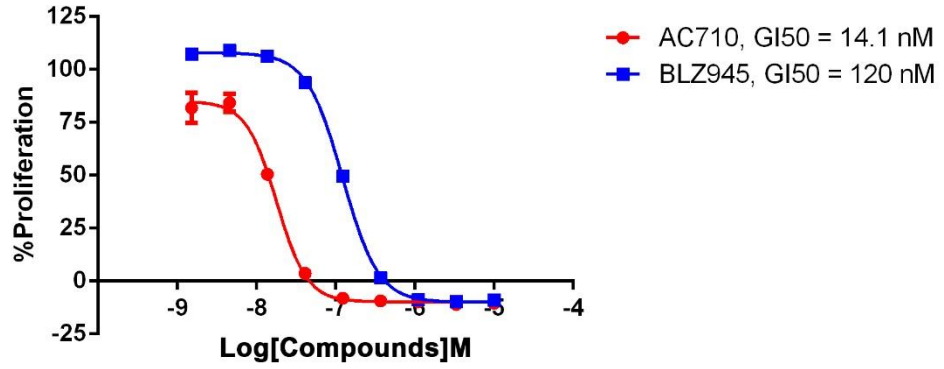


图 4: 使用 AC710、BLZ945 增殖抑制实验结果

## 8. 相关产品

N/A