Fostamatinib抑制AN3CA细胞IC50实验方案

# 简介

福坦替尼（Fostamatinib，R788）是活性代谢产物R406的前体药物，在细胞内转化为R406。R406是SYK/FLT3 ATP结合位点的竞争性抑制剂，通过与ATP竞争结合到SYK/FLT3上从而抑制了SYK/FLT3激酶活性。但是其与SYK的亲和力约是FLT3的5倍。

R406可以通过抑制SYK依赖的Fc受体抑制单核细胞、巨噬细胞、B细胞、T细胞和肥大细胞的激活。目前临床上主要用于治疗风湿性关节炎（Rheumatoid Arthritis ）和免疫性血小板减少性紫癜（Immune thrombocytopenic Purpura, ITP）。

# 抑制中浓度（IC50）

在体使用外诱导分化的肥大细胞，一项研究用7.8nM到125nM浓度的R406研究其抑制肥大细胞激活的效果1。发现其对adenosine A3 receptor的IC50为0.081M，adenosine transporter的IC50为1.84M，monoamine transporter的IC50为2.74M。

在另外一项使用R406诱导leukemias细胞凋亡实验中，研究者使用的浓度范围是0.16M - 10M2。

# 抑制时间

这篇文章2就是研究R406诱导leukemias细胞凋亡的效果，其选择了三个时间点观察，分别为24小时、48小时和72小时。这篇文章使用了多个leukemias细胞系，但是使用10M抑制72小时后效果最好一组的细胞存活率依然还有大约50%（如下图 [Figure 1](#fig-01)）。

研究R406对SYK下游蛋白磷酸化情况的处理时间基本在5到30分钟之间。

|  |
| --- |
| Figure 1: **R406诱导lekemias细胞凋亡的效果**。 |

# 检测方法

使用CCK8检测，加入CCK8试剂后二氧化碳培养箱中继续培养2小时，然后使用酶标仪测OD450, 与对照相比OD450下降一半时的浓度为抑制中浓度。

# 实验安排

* R788浓度梯度（M）：0， 0.01， 0.1， 1.0， 10， 100
* R788处理时间：24小时。
* 每个样三个副孔，总共：6 x 3 x 3 = 54个孔。
* 种到96孔板，每孔种大约1000个细胞。

# 参考文献

1. Braselmann, S. *et al.* R406, an orally available spleen tyrosine kinase inhibitor blocks fc receptor signaling and reduces immune complex-mediated inflammation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **319**, 998–1008 (2006).

2. Suljagic, M. *et al.* The syk inhibitor fostamatinib disodium (R788) inhibits tumor growth in the E- TCL1 transgenic mouse model of CLL by blocking antigen-dependent b-cell receptor signaling. *Blood* **116**, 4894–4905 (2010).