Product sheet

Клетки HEK293-VEGFR2 | 305990

Обща информация

Description	**Забележка: Посочените цени за клетъчните линии са валидни единствено за академични/нестопански клиенти. За търговски субекти цената е приблизително 6 250 евро. Ако представлявате търговски субект или не сте сигурни в коя категория попадате, моля свържете се с нас.** Клетките HEK293-VEGFR2 са човешки ембрионални бъбречни клетки 293 (HEK293), модифицирани да експресират стабилно човешкия рецептор 2 на васкуларния ендотелиален растежен фактор (VEGFR2/KDR/Flk-1) – рецепторна тирозин киназа, която служи като основен медиатор на VEGF-управляваната ангиогенна сигнализация. VEGFR2 се експресира предимно върху ендотелните клетки и играе съществена роля в съдовото развитие, пролиферацията, миграцията, пропускливостта и оцеляването на ендотелните клетки чрез активиране на надолу по веригата пътища, включително сигналните каскади от семействата MAPK/ERK, PI3K/AKT, PLCγ и SRC. Дисрегулираната VEGFR2 сигнализация допринася за туморната ангиогенеза, възпалителното съдово ремоделиране и патологичната неоваскуларизация, което прави рецептора основна мишена в терапията на онкологични и съдови заболявания. Клетките HEK293-VEGFR2 се използват широко в изследванията на ангиогенезата и откриването на лекарства за характеризиране на моноклонални антитела, насочени към VEGFR2, инхибитори на тирозин киназа, лигандни капани, биспецифични антитела и антиангиогенни биологични продукти. Стабилната рекомбинантна експресионна система поддържа количествена оценка на свързването на VEGF лиганда, фосфорилирането на рецептора, активирането на сигнализацията надолу по веригата, интернализацията на рецептора и потентността на инхибитора. Тези клетки също се използват често в репортерни тестове, проучвания на свързването, базирани на проточна цитометрия, тестове за киназна активност и работни потоци за терапевтичен скрининг с висока производителност. Тъй като HEK293 клетките поддържат стабилна експресия на рекомбинантни протеини и ефективно размножаване, те осигуряват надеждна платформа за разработване на стандартизирани VEGFR2 тестове и механистични проучвания на сигнализацията.
Organism	Човек
Tissue	Фетален бъбрек
Disease	Трансформиран/увековечен; нетуморогенен (на базата на HEK293)
Applications	Разработване на антитела, насочени срещу VEGFR2 (аналози на рамуцирумаб); изследвания в областта на ангиогенезата; ADCC/CDC тестове; проточна цитометрия; скрининг на антиангиогенна терапия; изследвания в областта на онкологията и офталмологията
Synonyms	HEK293/VEGFR2

Характеристики

Клетки HEK293-VEGFR2 | 305990

Age	Плод
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEK293-VEGFR2 (каталожен номер на Cytion 305990)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_D7C3
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293 съдържа конструкт за експресия на VEGFR2 (KDR/FLK-1), предназначен за изследвания на рецептора на съдовия ендотелиален растежен фактор и разработване на антиангиогенна терапия. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	VEGFR2

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 1 mM натриев пируват, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Добавете Geneticin (G418-Sulfat), за да достигнете крайна концентрация от 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Трипсин-EDTA

Клетки HEK293-VEGFR2 | 305990

Doubling time	около 24–36 часа
Subculturing	За рутинни адхезивни клетъчни култури: Аспирирайте старата хранителна среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, за да отстраните останалата среда. След като аспирирате PBS, добавете подходящия обем разтвор на трипсин/EDTA в зависимост от размера на съда за култивиране (напр. 1 ml за колба T25, 3 ml за колба T75) и инкубирайте при стайна температура или 37 °C, докато клетките се отделят (5-10 минути). Наблюдавайте отделянето под микроскоп и при необходимост леко потупайте съда, за да освободите клетките. След като се отделят, добавете пълна среда, за да инактивирате трипсина/EDTA, внимателно ресуспендирайте клетките и прехвърлете аликвотна част от клетъчната суспензия в нов съд за култивиране, съдържащ прясна среда. Поставете съда в инкубатор, настроен на 37 °C с 5 % $_{CO2}$, и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	2 до 4 x 10^{4} клетки/cm^{2}
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването разделете клетките в съотношение 1:2 до 1:3 в колби T25 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се слепнат за поне 24 часа. За най-добро прикрепване и жизнеспособност след размразяване на клетките препоръчваме да се използват колби или плаки с колагеново покритие за първоначалното посяване след криовъзстановяването. Колагеновото покритие не е необходимо за последващо рутинно култивиране на клетките.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEK293-VEGFR2 | 305990

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293-VEGFR2 | 305990

Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.