Product sheet

Клетки HEK293-VEGF-TM | 305991

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-VEGF-TM са човешки ембрионални бъбречни клетки 293 (HEK293), модифицирани да експресират стабилно мембрано-свързана форма на васкуларен ендотелиален растежен фактор (VEGF), обикновено предназначена да представя VEGF на клетъчната повърхност чрез сливане с трансмембранен домейн. За разлика от разтворимите изоформи на VEGF, които се секретират в екстрацелуларната среда, VEGF-TM конструкциите позволяват локализирано и продължително представяне на VEGF лиганди върху плазмената мембрана, улеснявайки контролираното изследване на взаимодействията на VEGF рецепторите и механизмите на клетъчно-клетъчната сигнализация. Тези модифицирани модели са полезни за изучаване на ангиогенните сигнални пътища, медиирани предимно чрез VEGFR1 (FLT1) и VEGFR2 (KDR), които регулират ендотелната пролиферация, миграцията, съдовата пропускливост и неоваскуларизацията. Клетките HEK293-VEGF-TM се използват широко в изследванията на ангиогенезата и разработването на терапии за характеризиране на антитела, насочени към VEGF, рецепторни капани, антиангиогенни биологични продукти и инженерни имунни клетъчни терапии. Представянето на VEGF, закрепено към мембраната, позволява количествена оценка на рецепторното свързване, достъпността на лиганда, блокирането от антитела, клъстерирането на рецепторите и сигналните събития, зависещи от клетъчния контакт. Тези клетки са особено ценни при тестове за свързване, базирани на проточна цитометрия, системи за съвместна култура, репортерни тестове и платформи за скрининг с висока производителност, оценяващи инхибирането на VEGF/VEGFR пътя. В допълнение, моделите HEK293-VEGF-TM могат да подпомогнат проучвания, изследващи образуването на синапси и разпознаването на мишени от CAR-T клетки, насочени към VEGF, или платформи с биспецифични антитела.
Organism	Човек
Tissue	Фетален бъбрек
Disease	Трансформиран/увековечен; нетуморогенен (на базата на HEK293)
Applications	Изследвания върху трансмембранния VEGF (VEGF-TM); разработване на анти-VEGF антитела; проучвания върху туморната ангиогенеза; ADCC/CDC тестове; проточна цитометрия; изследвания в областта на онкологията и офталмологията

Характеристики

Age	Плод
Gender	Жена

Клетки HEK293-VEGF-TM | 305991

Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEK293-VEGF-TM (каталожен номер на Cytion 305991)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G30
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293 съдържа трансмембранен експресионен конструкт на VEGF (VEGF-TM) за изследвания на VEGF на клетъчната повърхност и разработване на антиангиогенна терапия. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	VEGF-TM

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
Doubling time	около 24–36 часа

Клетки HEK293-VEGF-TM | 305991

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-VEGF-TM | 305991

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 или 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 във валидирана, изолирана опаковка 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-VEGF-TM | 305991

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.