Product sheet

Κύτταρα HEK293-VEGF-TM | 305991

Γενικές πληροφορίες

Description	**Σημείωση: Οι τιμές που εμφανίζονται για τις κυτταρικές σειρές ισχύουν αποκλειστικά για πελάτες του ακαδημαϊκού τομέα ή μη κερδοσκοπικού χαρακτήρα. Για εμπορικές οντότητες, η τιμή ανέρχεται σε περίπου 6.250 €.** **Εάν εκπροσωπείτε εμπορική οντότητα ή δεν είστε σίγουροι για την κατηγορία στην οποία ανήκετε, παρακαλούμε επικοινωνήστε μαζί μας.** Τα κύτταρα HEK293-VEGF-TM είναι ανθρώπινα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα 293 (HEK293) που έχουν τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζουν σταθερά μια μορφή του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) συνδεδεμένη με τη μεμβράνη, η οποία έχει σχεδιαστεί για να παρουσιάζει τον VEGF στην κυτταρική επιφάνεια μέσω σύντηξης με έναν διαμεμβρανικό τομέα. Σε αντίθεση με τις διαλυτές ισομορφές VEGF που εκκρίνονται στο εξωκυτταρικό περιβάλλον, τα κατασκευάσματα VEGF-TM επιτρέπουν την τοπική και παρατεταμένη παρουσίαση των προσδετών VEGF στην πλασματική μεμβράνη, διευκολύνοντας την ελεγχόμενη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων των υποδοχέων VEGF και των μηχανισμών σηματοδότησης μεταξύ κυττάρων. Αυτά τα τροποποιημένα μοντέλα είναι χρήσιμα για τη μελέτη των αγγειογενετικών οδών σηματοδότησης που μεσολαβούνται κυρίως μέσω των VEGFR1 (FLT1) και VEGFR2 (KDR), οι οποίοι ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, τη μετανάστευση, την αγγειακή διαπερατότητα και τη νεοαγγειογένεση. Τα κύτταρα HEK293-VEGF-TM χρησιμοποιούνται ευρέως στην έρευνα της αγγειογένεσης και στην ανάπτυξη θεραπειών για τον χαρακτηρισμό αντισωμάτων που στοχεύουν τον VEGF, παγίδων υποδοχέων, αντι-αγγειογενετικών βιολογικών παραγόντων και θεραπειών με τροποποιημένα ανοσοκύτταρα. Η παρουσίαση του VEGF που είναι αγκυρωμένη στη μεμβράνη επιτρέπει την ποσοτική αξιολόγηση της σύνδεσης με τον υποδοχέα, της προσβασιμότητας του προσδέτη, του αποκλεισμού από αντισώματα, της συσσώρευσης υποδοχέων και των συμβάντων σηματοδότησης που εξαρτώνται από την κυτταρική επαφή. Αυτά τα κύτταρα είναι ιδιαίτερα πολύτιμα σε δοκιμασίες σύνδεσης με βάση την κυτταρομετρία ροής, συστήματα συν-καλλιέργειας, δοκιμασίες αναφοράς και πλατφόρμες διαλογής υψηλής απόδοσης που αξιολογούν την αναστολή της οδού VEGF/VEGFR. Επιπλέον, τα μοντέλα HEK293-VEGF-TM μπορούν να υποστηρίξουν μελέτες που εξετάζουν τον σχηματισμό συνάψεων και την αναγνώριση στόχων από CAR-T κύτταρα που κατευθύνονται από VEGF ή πλατφόρμες δισειδικών αντισωμάτων.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εμβρυϊκός νεφρός
Disease	Μετασχηματισμένο/αθανατοποιημένο· μη ογκογόνο (υπόβαθρο HEK293)
Applications	Έρευνα σχετικά με τον διαμεμβρανικό VEGF (VEGF-TM) · ανάπτυξη αντισωμάτων κατά του VEGF · μελέτες αγγειογένεσης όγκων · δοκιμασίες ADCC/CDC · κυτταρομετρία ροής · έρευνα στους τομείς της ογκολογίας και της οφθαλμολογίας

Χαρακτηριστικά

Κύτταρα HEK293-VEGF-TM | 305991

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HEK293-VEGF-TM (αριθμός καταλόγου Cytion 305991)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G30
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά HEK293 περιέχει ένα κατασκεύασμα έκφρασης διαμεμβρανικού VEGF (VEGF-TM) για μελέτες του VEGF στην κυτταρική επιφάνεια και την ανάπτυξη αντι-αγγειογενετικής θεραπείας. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	VEGF-TM

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1 mM πυρουβικό νάτριο, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Προσθέστε Geneticin (G418-Sulfat) για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Τρυψίνη-EDTA

Κύτταρα HEK293-VEGF-TM | 305991

Doubling time	περίπου 24-36 ώρες
Subculturing	Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Trypsin/EDTA με βάση το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα (5-10 λεπτά). Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Τρυψίνη/EDTA, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% $_{CO2}$ και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, χωρίστε τα κύτταρα σε αναλογία 1:2 έως 1:3 σε φιάλες T25 και αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες. Για καλύτερη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη των κυττάρων, συνιστούμε τη χρήση φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου για την αρχική σπορά μετά την κρυοανάκτηση. Η επίστρωση κολλαγόνου δεν απαιτείται για την επακόλουθη συνήθη καλλιέργεια των κυττάρων.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HEK293-VEGF-TM | 305991

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.