

HEK293-VEGF-TM-solut | 305991

Yleisiä tietoja

Description

Vastuuvapauslauseke: Solulinjojen hinnat koskevat yksinomaan akateemisia ja voittoa tavoittelemattomia asiakkaita. Kaupallisille toimijoille hinta on noin 6 250 euroa. Jos edustat kaupallista toimijaa tai et ole varma, kumpaanko ryhmään kuulut, [ota meihin yhteyttä](#).

HEK293-VEGF-TM-solut ovat ihmisen alkion munuaisperäisiä 293 (HEK293) -soluja, jotka on muokattu ilmentämään stabiilisti membraaniin kiinnittynyttä verisuonten endoteelisen kasvutekijän (VEGF) muotoa. Ne on suunniteltu esittämään VEGF:ää solun pinnalla fuusioitumalla transmembraanialueeseen. Toisin kuin solunulkoiseen ympäristöön erittyvät liukoiset VEGF-isoformit, VEGF-TM-konstruktit mahdollistavat VEGF-ligandien paikallisen ja pitkäkestoisen esittämisen plasmamembraanilla, mikä helpottaa VEGF-reseptori-vuorovaikutusten ja solu-solu-signaalintimekanismien hallittua tutkimusta. Nämä muokatut mallit ovat hyödyllisiä pääasiassa VEGFR1:n (FLT1) ja VEGFR2:n (KDR) välittämien angiogeenisten signalointireittien tutkimuksessa, jotka säätelevät endoteelisolujen proliferaatiota, migraatiota, verisuonten läpäisevyyttä ja neovaskularisaatiota.

HEK293-VEGF-TM-soluja käytetään laajalti angiogeneesitutkimuksessa ja terapeuttisessa kehityksessä VEGF:ään kohdistuvien vasta-aineiden, reseptoriloukkojen, antiangiogeenisten biologisten lääkkeiden ja muunneltujen immuunisoluterapioiden karakterisoimiseksi. Kalvoon ankkuroitu VEGF:n esittäminen mahdollistaa reseptorisitoutumisen, ligandin saatavuuden, vasta-aineen eston, reseptoriklusteroitumisen ja solukontaktista riippuvien signalointitapahtumien kvantitatiivisen arvioinnin. Nämä solut ovat erityisen arvokkaita virtausytometriaan perustuvissa sitoutumismäärityksissä, yhteisviljelyjärjestelmissä, raporttimäärityksissä ja suurikapasiteettisissa seulonta-alustoissa, joilla arvioidaan VEGF/VEGFR-reitin estymistä. Lisäksi HEK293-VEGF-TM-mallit voivat tukea tutkimuksia, joissa tarkastellaan synapsien muodostumista ja kohteen tunnistamista VEGF:ään kohdistuvien CAR-T-solujen tai bispesifisten vasta-ainealustojen avulla.

Organism Ihminen

Tissue Sikiön munuainen

Ominaisuudet

Age Sikiö

Gender Nainen

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

HEK293-VEGF-TM-solut | 305991**Citation** HEK293-VEGF-TM (Cytionin tuotenumero 305991)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_D7C3**Biomolekyylitiedot****Receptors expressed** VEGF-TM**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennä elatusainetta 10 % FBS:llä, 1 mM natriumpyruvaatilla, 10 mM HEPES:llä, 1 % NEAA:lla. Lisää genetiinejä (G418-Sulfat), jotta lopullinen pitoisuus on 1 mg/ml.**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA**Subculturing** Rutiininomaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttää elatusainetta trypsiini/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen solut jaetaan T25-pulloihin suhteessa 1:2-1:3 ja annetaan solujen toipua pakastuksesta ja tarttua vähintään 24 tuntia.

Parhaan kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi solujen sulattamisen jälkeen suosittelemme kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen käyttämistä ensimmäiseen kylvöön kryokuntoutuksen jälkeen. Kollageenipinnoitusta ei tarvita solujen myöhemmässä rutiiniviljelyssä.

HEK293-VEGF-TM-solut | 305991

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293-VEGF-TM-solut | 305991

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.