Product sheet

HEK293-VEGF-TM šūnas | 305991

Vispārīga informācija

Description	**Atbrīvojums no atbildības: Šeit norādītās šūnu līniju cenas attiecas tikai uz akadēmiskajiem/bezpeļņas klientiem. Komerciālām organizācijām cena ir aptuveni 6250 eiro.** **Ja Jūs pārstāvat komerciālu organizāciju vai neesat pārliecināts, kura kategorija Jums attiecas, lūdzu, sazinieties ar mums.** HEK293-VEGF-TM šūnas ir cilvēka embrija nieres 293 (HEK293) šūnas, kas inženierijas ceļā pārveidotas, lai stabili ekspresētu membrānas piesaistītu asinsvadu endotēlija augšanas faktora (VEGF) formu, kas parasti ir paredzēta VEGF prezentēšanai uz šūnu virsmas, saplūstot ar transmembrānas domēnu. Atšķirībā no šķīstošajām VEGF izoformām, kas tiek izdalītas ekstracelulārajā vidē, VEGF-TM konstrukcijas ļauj lokalizēti un ilgstoši prezentēt VEGF ligandus uz plazmas membrānas, atvieglojot VEGF receptoru mijiedarbības un šūnu-šūnu signālu mehānismu kontrolētu izpēti. Šie inženierijas modeļi ir noderīgi, lai pētītu angiogēnās signālu ceļus, kurus galvenokārt mediē VEGFR1 (FLT1) un VEGFR2 (KDR) un kuri regulē endotēlija proliferāciju, migrāciju, asinsvadu caurlaidību un neovaskularizāciju. HEK293-VEGF-TM šūnas plaši izmanto angiogēnēzes pētījumos un terapeitisko līdzekļu izstrādē, lai raksturotu VEGF mērķa antivielas, receptoru slazdus, antiangiogēnos bioloģiskos preparātus un inženierijas imūno šūnu terapijas. Membrānas piesaistītā VEGF klātbūtne ļauj kvantitatīvi novērtēt receptoru saistīšanos, liganda pieejamību, antivielu blokādi, receptoru klasterizāciju un šūnu kontakta atkarīgus signālu pārraides notikumus. Šīs šūnas ir īpaši vērtīgas plūsmas citometrijas balstītos saistīšanās testos, kopkultūras sistēmās, reporteru testos un augstas caurlaidspējas skrīninga platformās, kas novērtē VEGF/VEGFR ceļa inhibīciju. Turklāt HEK293-VEGF-TM modeļi var atbalstīt pētījumus, kuros izpēta sinapšu veidošanos un mērķa atpazīšanu ar VEGF vērstām CAR-T šūnām vai bispecifiskām antivielu platformām.
Organism	Cilvēks
Tissue	Augļa nieres
Disease	Pārveidots/imortalizēts; neizraisa audzēju veidošanos (HEK293 fons)
Applications	Pētījumi par transmembrāno VEGF (VEGF-TM); anti-VEGF antivielu izstrāde; pētījumi par audzēju angiogēnēzi; ADCC/CDC analīzes; plūsmas citometrija; pētījumi onkoloģijas un oftalmoloģijas jomā

Raksturojums

Age	Auglis
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūnas

HEK293-VEGF-TM šūnas | 305991

Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation	HEK293-VEGF-TM (Cytion kataloga numurs 305991)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G30
GMO Status	GMO-S1: Šī HEK293 šūnu līnija satur transmembrānas VEGF (VEGF-TM) ekspresijas konstruktu, kas paredzēts VEGF pētījumiem uz šūnu virsmas un antiangiogēnās terapijas izstrādei. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs tā var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	VEGF-TM

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10% FBS, 1 mM nātrija piruvātu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Pievienojiet ģenētiķīnu (G418-Sulfat), lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Tripsīns-EDTA
Doubling time	aptuveni 24–36 stundas
Subculturing	Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūknēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C, līdz šūnas atdalās (5-10 minūtes). Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 % $_{CO2}$, un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.

HEK293-VEGF-TM šūnas | 305991

Split ratio	no 1 līdz 5
Seeding density	2 līdz 4 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas sadaliet šūnas T25 kolbās proporcijā 1:2 līdz 1:3 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un salipt vismaz 24 stundas. Lai pēc šūnu atkausēšanas nodrošinātu vislabāko piestiprināšanos un dzīvotspēju, iesakām pēc krioatjaunošanas sākotnējai izsēšanai izmantot ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates. Kolagēna pārklājums nav nepieciešams turpmākai ikdienas šūnu kultivēšanai.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HEK293-VEGF-TM šūnas | 305991

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

HEK293-VEGF-TM šūnas | 305991

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.