

Komórki HEK293-VEGFR2 | 305990

Informacje ogólne

Description

Zastrzeżenie: Podane ceny linii komórkowych dotyczą wyłącznie klientów akademickich lub organizacji non-profit. Dla podmiotów komercyjnych cena wynosi około 6 250 euro.

Jeśli reprezentujesz podmiot komercyjny lub nie masz pewności, która kategoria ma zastosowanie, prosimy o [kontakt](#).

Komórki HEK293-VEGFR2 to komórki ludzkiej embrionalnej nerki 293 (HEK293) zmodyfikowane genetycznie w celu stabilnej ekspresji ludzkiego receptora 2 czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGFR2/KDR/Flk-1), receptora kinazy tyrozynowej, który pełni rolę głównego mediatora sygnalizacji angiogenicznej stymulowanej przez VEGF. VEGFR2 jest wyrażany głównie na komórkach śródbłonka i odgrywa istotną rolę w rozwoju naczyń, proliferacji komórek śródbłonka, migracji, przepuszczalności i przeżywalności poprzez aktywację szlaków niższego rzędu, w tym kaskad sygnałowych rodzin MAPK/ERK, PI3K/AKT, PLCy i SRC. Zaburzenia sygnalizacji VEGFR2 przyczyniają się do angiogenezy nowotworowej, zapalnej przebudowy naczyń i patologicznej neowaskularyzacji, co sprawia, że receptor ten jest głównym celem w terapii onkologicznej i chorób naczyniowych.

Komórki HEK293-VEGFR2 są szeroko stosowane w badaniach nad angiogenezą i odkrywaniu leków do charakteryzowania przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko VEGFR2, inhibitorów kinazy tyrozynowej, pułapek ligandowych, przeciwciał bispecyficznych oraz leków biologicznych o działaniu antyangiogennym. Stabilny system ekspresji rekombinowanej umożliwia ilościową ocenę wiązania liganda VEGF, fosforylacji receptora, aktywacji sygnalizacji niższego rzędu, internalizacji receptora oraz siły działania inhibitorów. Komórki te są również powszechnie stosowane w testach reporterowych, badaniach wiązania opartych na cytometrii przepływowej, testach aktywności kinaz oraz procesach wysokoprzepustowego przesiewania terapii. Ponieważ komórki HEK293 umożliwiają solidną ekspresję białek rekombinowanych i wydają propagację, stanowią one niezawodną platformę do opracowywania standardowych testów VEGFR2 oraz badań mechanizmów sygnalizacji.

Organism Człowiek

Tissue Nerka płodu

Synonyms HEK293/VEGFR2

Charakterystyka

Age Płód

Gender Kobieta

Morphology Podobny do nabłonka

Komórki HEK293-VEGFR2 | 305990

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation HEK293-VEGFR2 (numer katalogowy Cytion 305990)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_D7C3

Dane biomolekularne

Receptors expressed VEGFR2

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 1 mM pirogronianu sodu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Dodać Geneticin (G418-Sulfat), aby osiągnąć końcowe stężenie 1 mg/ml.

Dissociation Reagent Trypsyna-EDTA

Subculturing W przypadku rutynowej hodowli komórek przylegających: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Trypsyna/EDTA w zależności od wielkości naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C do momentu odłączenia się komórek (5-10 minut). Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji trypsyny/EDTA, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieścić naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5% _{CO2} i zmieniaj pożywkę co 2-3 dni.

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki HEK293-VEGFR2 | 305990

Post-Thaw Recovery

Po rozmrożeniu podziel komórki w stosunku od 1:2 do 1:3 na kolby T25 i pozwól komórkom na regenerację po procesie zamrażania i przyleganie przez co najmniej 24 godziny.

Aby uzyskać najlepsze przyleganie i żywotność po rozmrożeniu komórek, zalecamy użycie kolb lub płytek pokrytych kolagenem do początkowego wysiewu po krioregeneracji. Powłoka kolagenowa nie jest wymagana do późniejszej rutynowej hodowli komórek.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Komórki HEK293-VEGFR2 | 305990

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.