Product sheet

Клітини HEK293-VEGF-TM | 305991

Загальна інформація

Description	**Застереження: Ціни, вказані для клітинних ліній, призначені виключно для клієнтів з академічних та некомерційних організацій. Для комерційних організацій ціна становить приблизно 6 250 євро. Якщо ви представляєте комерційну організацію або не впевнені, до якої категорії ви належите, будь ласка, зверніться до нас.** Клітини HEK293-VEGF-TM — це клітини людської ембріональної нирки 293 (HEK293), модифіковані для стабільної експресії мембранозв'язаної форми фактора росту ендотелію судин (VEGF), що зазвичай призначені для презентації VEGF на поверхні клітини шляхом злиття з трансмембранним доменом. На відміну від розчинних ізоформ VEGF, що секретуються у позаклітинне середовище, VEGF-TM-конструкції забезпечують локалізовану та тривалу презентацію лігандів VEGF на плазматичній мембрані, що полегшує контрольоване дослідження взаємодій рецепторів VEGF та механізмів міжклітинної сигналізації. Ці модифіковані моделі корисні для вивчення ангіогенних сигнальних шляхів, опосередкованих переважно через VEGFR1 (FLT1) та VEGFR2 (KDR), які регулюють проліферацію ендотелію, міграцію, судинну проникність та неоваскуляризацію. Клітини HEK293-VEGF-TM широко використовуються в дослідженнях ангіогенезу та розробці терапевтичних засобів для характеристики антитіл, спрямованих проти VEGF, рецепторних пасток, антиангіогенних біологічних препаратів та інженерних імунотерапій. Презентація VEGF, закріпленого на мембрані, дозволяє проводити кількісну оцінку зв'язування з рецептором, доступності ліганду, блокади антитілами, кластеризації рецепторів та сигнальних подій, що залежать від клітинного контакту. Ці клітини є особливо цінними в аналізах зв'язування на основі проточної цитометрії, системах спільного культивування, репортерних аналізах та платформах високопродуктивного скринінгу, що оцінюють інгібування шляху VEGF/VEGFR. Крім того, моделі HEK293-VEGF-TM можуть підтримувати дослідження, що вивчають формування синапсів та розпізнавання мішеней CAR-T-клітинами, спрямованими на VEGF, або платформами біспецифічних антитіл.
Organism	Людина
Tissue	Ембріональна нирка
Disease	Трансформовані/увічнені; непухлинні (на основі клітин HEK293)
Applications	Дослідження трансмембранного VEGF (VEGF-TM); розробка антитіл проти VEGF; дослідження ангіогенезу пухлин; аналізи ADCC/CDC; проточна цитометрія; дослідження в галузі онкології та офтальмології

Характеристики

Age	Плід
Gender	Жінка

Клітини HEK293-VEGF-TM | 305991

Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation	HEK293-VEGF-TM (номер у каталозі Cytion 305991)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G30
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія HEK293 містить трансмембранну конструкцію для експресії VEGF (VEGF-TM), призначену для досліджень VEGF на поверхні клітин та розробки антиангіогенної терапії. Ця класифікація діє лише на території Німеччини і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	VEGF-TM

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 1 мМ пірувату натрію, 10 мМ HEPES, 1% NEAA. Додайте генетин (G418-Sulfat) для досягнення кінцевої концентрації 1 мг/мл.
Dissociation Reagent	Трипсин-ЕДТА
Doubling time	приблизно 24–36 годин

Клітини HEK293-VEGF-TM | 305991

Subculturing	Для рутинного культивування адгезивних клітин: Аспіруйте старе культуральне середовище з адгезивних клітин і промийте їх PBS, щоб видалити залишки середовища. Після аспірації PBS додайте відповідний об'єм розчину трипсину/ЕДТА залежно від розміру культуральної посудини (наприклад, 1 мл для колби T25, 3 мл для колби T75) та інкубуйте при кімнатній температурі або 37°C до відокремлення клітин (5-10 хвилин). Спостерігайте за відшаруванням під мікроскопом і, якщо необхідно, обережно постукайте по посудині, щоб звільнити клітини. Після відокремлення додайте повне середовище для інактивації трипсину/ЕДТА, обережно ресуспендуйте клітини і перенесіть аліквоту клітинної суспензії в нову культуральну посудину зі свіжим середовищем. Помістіть посудину в інкубатор, налаштований на 37°C з 5% $_{CO2}$, і міняйте середовище кожні 2-3 дні.
Split ratio	від 1 до 5
Seeding density	Від 2 до 4 x 10^{4} клітин/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування розділіть клітини у співвідношенні 1:2 - 1:3 у колбах T25 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування і прилипнути протягом щонайменше 24 годин. Для кращої адгезії та життєздатності клітин після розморожування ми рекомендуємо використовувати колби або планшети з колагеновим покриттям для первинного посіву після кріовідновлення. Для подальшого рутинного культивування клітин колагенове покриття не потрібне.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HEK293-VEGF-TM | 305991

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.