

## rhVEGF-A165

Фактор роста эндотелия сосудов-А  
человека, изоформа 165,  
рекомбинантный белок

Хранить при:  $-20^{\circ}\text{C}$

Источник: Клеточная линия CHO

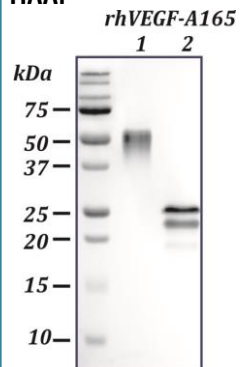
10 мкг #PSG010-10

100 мкг #PSG010-100

Данный продукт предназначен только для использования в исследовательских целях.  
Данный продукт не предназначен для терапевтических или диагностических процедур у людей и животных.

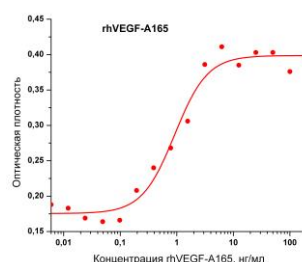
Источник	Клеточная линия CHO, продуцирующая rhVEGF-A165.
Анализ чистоты:	>98%, в соответствии с электрофорезом в ПААГ, окраска Coomassie Brilliant Blue.
Уровень эндотоксина:	<0.1 EU на 1мкг белка. LAL-тест.
Форма:	Лиофильно высушен из фосфатного буферного раствора PBS, содержащего 0,05% Tween20, pH 7.0, профильтрованного через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм. <u>Не содержит вспомогательных белков.</u>
Разведение:	Центрифугировать флакон при 1000rpm, 3 мин. Добавить стерильный фосфатный буферный раствор (PBS) до конечной концентрации 0,1-0,2 мг/мл. Оставить на 20-30 мин при комнатной температуре, затем центрифугировать при 1000rpm в течение 1 мин и мягко ресуспендировать. Для приготовления рабочих растворов можно использовать буфер на водной основе или культуральную среду. Добавление вспомогательных белков (BSA или FBS) не требуется.
Условия транспортировки:	Перевозить при температуре окружающей среды.
Стабильность и условия хранения:	<ul style="list-style-type: none"><li>• 12 месяцев, хранение не вскрытой упаковки, при температуре от <math>-20</math> до <math>-70^{\circ}\text{C}</math>.</li><li>• 1 месяц, разведенный в стерильных условиях, при температуре от 2 до <math>8^{\circ}\text{C}</math>.</li><li>• 6 месяцев, разведенный в стерильных условиях, при температуре от <math>-20</math> до <math>-70^{\circ}\text{C}</math></li></ul> <u>Не рекомендуются повторные циклы замораживания-оттаивания раствора рекомбинантного белка.</u>
Структура:	Дисульфид-связанный гомодимер.
Молекулярный вес:	19-25 кДа в редуцирующих условиях и 50 кДа в нередуцирующих условиях.
Функциональность:	rhVEGF-A165 способен стимулировать фосфорилирование VEGFR2 рецептора человека в клетках линии CHO временно экспрессирующих полноразмерный VEGFR2 человека.
Биологическая активность:	Рекомбинантный белок rhVEGF-A165 человека стимулирует пролиферацию клеток эндотелия пупочной вены человека (HUVEC). ED50 для данного эффекта обычно 0,4 - 2 нг/мл. Оптимальная концентрация для индивидуального применения определяются пользователем.

## ПААГ



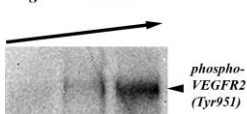
Электрофоретическая подвижность рекомбинантного белка VEGF-A165 человека в 12,5% полиакриламидном геле в нередуцирующих (лунка1) и редуцирующих (лунка2) условиях, с последующим окрашиванием Coomassie Brilliant Blue.

## Биоактивность



Рекомбинантный белок rhVEGF-A165 человека стимулирует пролиферацию клеток линии HUVEC. ED50 для данного эффекта обычно 0,4 - 2 нг/мл

rhVEGF-A<sub>165</sub> concentration in growth medium



Клетки CHO экспрессирующие VEGF рецептор-2 человека (VEGFR2) обрабатывались rhVEGF-A165 в возрастающих концентрациях. После приготовления клеточных лизатов, активированный VEGF рецептор-2 детектировали методом иммуноблотинг, используя anti-phospho-VEGF receptor-2 (Tyr951) антитела

**Фактор Роста Эндотелия Сосудов (ФРЭС),** (англ. VEGF, *Vascular endothelial growth factor*) является одним из ключевых регуляторов ангиогенеза. Наиболее важную роль в организме человека играет белок семейства VEGF, называемый VEGF-A. В данное семейство также входят плацентарный фактор роста (PlGF) и белки VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D. VEGF-A представляет собой гликопротеиновый гомодимер, 45 кДа, и играет ключевую роль в хемотаксисе и дифференцировке ангиобластов, в пролиферации эндотелиоцитов (ЭК), в васкулогенезе и в перестройке сосудов. В результате альтернативного сплайсинга или протеолитического расщепления формируются 4 основные изоформы VEGF-A, состоящие из 121, 165, 189 или 206-ти аминокислотных остатков.

Достоверно установленным действием VEGF является ускорение роста эндотелиоцитов артерий, вен и лимфатических сосудов. VEGF индуцирует мощный ангиогенный ответ во множестве моделей *in vivo*. Кроме того, VEGF увеличивает проницаемость сосудов, и это свойство лежит в основе важной роли молекулы в воспалении и других патологических процессах. В данном контексте VEGF также индуцирует экспрессию эндотелием некоторых молекул адгезии, регулирующих адгезию лейкоцитов при воспалении. *In vitro* VEGF предотвращает апоптоз эндотелиоцитов, индуцируемый истощением сыворотки. VEGF также индуцирует экспрессию в эндотелиоцитах антиапоптотического белка BCL2. Зависимость от VEGF была показана на эндотелиоцитах вновь образованных, но незрелых сосудов опухолей. Следует подчеркнуть, что хотя эндотелиальные клетки являются главными мишенями VEGF, в ходе нескольких исследований были показаны также его эффекты на митотическую активность/выживаемость некоторых неэндотелиальных клеточных типов, включая нейроны и опухолевые клетки.

VEGFs-сигнализация осуществляется через рецепторные тирозинкиназы VEGFR, наиболее значимой из которых является VEGFR-2 (Flk-1/KDR). VEGF-A, связываясь с VEGFR-2, вызывает димеризацию и аутофосфорилирование тирозинкиназных остатков. Активация фосфолипазы C и последующий запуск MAPK-

киназного каскада лежит в основе формирования новых сосудов. VEGFR-2 стимулирует фосфорилирование T-специфического белка-адаптора, который ассоциирован с цитоплазматической тирозинкиназой Src, регулирующей организацию актиновых фибрилл и миграцию эндотелиальных клеток в ответ на VEGF-A. Подобным образом, VEGF-A через активацию Src-зависимой малой ГТФазы Ras обеспечивает зависимое от p21-киназы фосфорилирование высококонсервативных тирозиновых остатков VE-кадгерина, что приводит к его интернализации и разъединению ЭК, ведущему к увеличению проницаемости эндотелия. Кроме того, связывание VEGF-A с VEGFR-2 активирует путь фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) с последующим увеличением уровня экспрессии антиапоптотических белков, например, Bcl-2, и снижением активности проапоптотических белков, таких, как каспаза-3.

Нарушение баланса между стимуляторами и ингибиторами роста сосудов и, как следствие, чрезмерный или недостаточный ангиогенез, играет серьёзную роль в патогенезе многочисленных заболеваний. Избыточный ангиогенез сопровождается злокачественными опухолями, воспалительными заболеваниями и поражениями глаз. Вносит свой вклад в течение таких патологий, как астма, цирроз, эндометриоз, ожирение, СПИД, диабет, аутоиммунные заболевания и т.д. Ряд других патологий - ишемия сердца, инсульт, язвенные поражения, нейродегенерации - характеризуется недостаточным ангиогенезом, слабым снабжением поражённых тканей кровью. Понимание основных механизмов ангиогенеза в норме и его нарушений при конкретных болезнях лежит в основе выработки успешной терапии различных заболеваний.

#### Использованная литература:

- Adams RH, Alitalo K. // Nat. Rev. Mol. Cel. Biol.(2007). 8: 464.  
Carmeliet P. // Nature Rev Genet (2003). 4: 710.  
Carmeliet P., Jain R.K. // Nature (2011). 473 (7347): 298-307.  
Chimenti I, et al.// Circ. Res. (2010). 106: 971.  
Chung AS, Ferrara N. // Annu Rev Cell Dev Biol. (2011). 27: 563.  
Dvorak H.F. // J.Clin.Oncol. (2002). 20: 4368  
Gavard J, Gutkind JS. // Nat. Cell Biol. (2006). 8: 1223.  
Matsumoto T, et al. // EMBO J. (2005). 24: 2342.  
Taimeh Z, et al. // Nat Rev Cardiol. (2013). 10 (9): 519.