Product sheet

Клетки Vero E6 | 305008

Обща информация

Description	Клетките Vero E6, известни също като Vero C1008 или Vero 76 клонинг E6, са непрекъсната линия епителни клетки, получени от бъбреците на африканската зелена маймуна Chlorocebus sabaeus. Клонът Vero E6, подлиния на клетките Vero, е особено известен с полезността си във вирусологичните изследвания поради високата си чувствителност към широк спектър от вируси, включително коронавируси като SARS-CoV и SARS-CoV-2, вируса Ебола и вируса Зика. Клетъчната линия е от решаващо значение за производството на ваксини, като тези за ваксината срещу японски енцефалит, поради капацитета ѝ за култивиране и изолиране на вируси. Клетките са изиграли ключова роля в разработването на терапевтични продукти на COVID, включително тестването на полимеразния инхибитор ремдезивир. Със способността си да поддържат репликация на различни вируси клетките Vero E6 улесняват скрининга на съединения и оценката на антивирусната ефикасност. Ролята им в клиничните изпитвания се простира до оценка на противовъзпалителни лекарства като дексаметазон и изследване на генни продукти като P-гликопротеина (pgp протеин), кодиран от гена pgp. Клетките Vero E6 не притежават ген за интерферон-β, което отчасти обяснява високата им чувствителност към вирусни инфекции; този дефицит им пречи да осъществят ефективен вроден антивирусен отговор. В обобщение, клетките Vero E6 са ценен ресурс в областта на вирусологията и биомедицината, предоставяйки универсална платформа за антивирусен скрининг, изследване на репликацията във Vero и подпомагайки търсенето на разбиране на ретровирусните последователности.
Organism	Chlorocebus sabaeus (Зелена маймуна)
Tissue	Нормален бъбрек

Характеристики

Age	Възрастни
Morphology	Епителиален
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Vero E6 (каталожен номер 305008 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711

Клетки Vero E6 | 305008

CellosaurusAccession	CVCL_0574

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки Vero E6 | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки Vero E6 | 305008

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.