

Vero E6-celler | 305008

General information

Description

Vero E6-celler, også kendt som Vero C1008 eller Vero 76 klon E6, er en kontinuerlig linje af epitelceller, der stammer fra nyrene hos den afrikanske grønne abe, *Chlorocebus sabaeus*. Vero-klonen E6, en underlinje af Vero-celler, er især kendt for sin anvendelighed i virologisk forskning på grund af sin høje følsomhed over for en lang række vira, herunder coronavirus som SARS-CoV og SARS-CoV-2, ebola-virus og zika-virus.

Cellelinjen er afgørende for produktionen af vacciner, som f.eks. vaccinen mod japansk encephalitis, på grund af deres evne til at dyrke og isolere virus. Cellerne har spillet en central rolle i udviklingen af COVID-behandlinger, herunder testning af polymerasehæmmeren remdesivir. Med deres evne til at understøtte replikationen af en række forskellige vira letter Vero E6-celler screening af forbindelser og evaluering af antiviral effekt.

Deres rolle i kliniske forsøg strækker sig til vurdering af antiinflammatoriske lægemidler som dexamethason og undersøgelse af genprodukter som P-glykoprotein (pgp-protein), der kodes af pgp-genet. Vero E6-celler mangler interferon- β -genet, hvilket til dels forklarer deres høje følsomhed over for virusinfektioner; denne mangel forhindrer dem i at opbygge et effektivt medfødt antiviralt respons.

Sammenfattende er Vero E6-celler en værdifuld ressource inden for virologi og biomedicin, idet de udgør en alsidig platform til antiviral screening, undersøgelse af replikation i Vero og hjælp til at forstå retrovirale sekvenser.

Organism Chlorocebus sabaeus (grøn abe)

Tissue Normal nyre

Karakteristika

Age Voksen

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation Vero E6 (Cytion katalognummer 305008)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0574

Vero E6-celler | 305008

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 22 timer

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Vero E6-celler | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Vero E6-celler | 305008

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.