Product sheet

Vero E6 rakud | 305008

Üldine teave

Description	Vero E6 rakud, tuntud ka kui Vero C1008 või Vero 76 kloon E6, on Aafrika rohelise ahvi Chlorocebus sabaeus'e neerudest saadud pidev epiteelirakkude liin. Vero kloon E6, Vero rakkude alamliin, on eriti tuntud oma kasulikkuse poolest viroloogiauuringutes, kuna ta on väga tundlik paljude viiruste, sealhulgas koronaviiruste, nagu SARS-CoV ja SARS-CoV-2, Ebola viiruse ja Zika viiruse suhtes. Rakuliin on oluline vaktsiinide, näiteks Jaapani entsefaliidi vaktsiini valmistamisel tänu nende võimele viiruste kasvatamiseks ja isoleerimiseks. Rakkudel on olnud keskne roll COVID-ravimite väljatöötamisel, sealhulgas polümeraasi inhibiitori remdesiviiri katsetamisel. Tänu oma võimele toetada erinevate viiruste replikatsiooni hõlbustavad Vero E6 rakud ühendite sõelumist ja viirusevastase tõhususe hindamist. Nende roll kliinilistes uuringutes laieneb põletikuvastaste ravimite, nagu deksametasoon, hindamisele ja selliste geenitoodete nagu pgp-geeni poolt kodeeritava P-glükoproteiini (pgp-valk) uurimisele. Vero E6 rakkudel puudub interferoon-β geen, mis osaliselt seletab nende suurt vastuvõtlikkust viirusinfektsioonide suhtes; see puudus takistab neil tõhusa kaasasündinud viirusevastase vastuse tekkimist. Kokkuvõttes on Vero E6 rakud väärtuslik ressurss viroloogia ja biomeditsiini valdkonnas, pakkudes mitmekülgset platvormi viirusevastase sõeluuringu läbiviimiseks, replikatsiooni uurimiseks Veros ja aidates kaasa retroviiruste järjestuse mõistmisele.
Organism	Chlorocebus sabaeus (roheline ahv)
Tissue	Normaalne neer

Omadused

Age	Täiskasvanud
Morphology	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	Vero E6 (Cytioni kataloginumber 305008)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711
CellosaurusAccession	CVCL_0574

Vero E6 rakud | 305008

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Vero E6 rakud | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.

2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.

3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.

4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.

5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.

6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.

7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.

8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.