

Vero E6 rakud | 305008

Üldine teave

Description

Vero E6 rakud, tuntud ka kui Vero C1008 või Vero 76 kloon E6, on Aafrika roheline ahvi *Chlorocebus sabaues*'e neerudest saadud pidev epiteelirakkude liin. Vero kloon E6, Vero rakkude alamliin, on eriti tuntud oma kasulikkuse poolest viroloogiauringutes, 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 pgg-geeni poolt kodeeritava P-glükoproteiini (pgp-alk) 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 sabaues (roheline ahv)

Tissue Normaalne neer

Omadused

Age Täiskasvanud

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation Vero E6 (Cytioni katalooginumber 305008)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0574

Vero E6 rakud | 305008

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture MediumEMEM (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 rakkudel 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 tsentrifugeerige 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

Krüsosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 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 vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Vero E6 rakud | 305008

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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.