Product sheet

Vero E6-solut | 305008

Yleisiä tietoja

Description	Vero E6 -solut, jotka tunnetaan myös nimellä Vero C1008 tai Vero 76 klooni E6, ovat jatkuva epiteelisolulinja, joka on peräisin afrikkalaisen vihreän apinan, Chlorocebus sabaeus, munuaisista. Vero-klooni E6, Vero-solujen alalinja, tunnetaan erityisesti sen hyödyllisyydestä virologian tutkimuksessa, koska se on erittäin herkkä monille viruksille, kuten SARS-CoV:n ja SARS-CoV-2:n kaltaisille koronaviruksille, Ebola-virukselle ja Zika-virukselle. Solulinja on ratkaisevan tärkeä rokotteiden, kuten japanin enkefaliittirokotteen, tuotannossa, koska se pystyy viljelemään ja eristämään viruksia. Soluilla on ollut keskeinen rooli COVID-terapeuttisten lääkkeiden kehittämisessä, muun muassa polymeraasinestäjä remdesivirin testaamisessa. Koska Vero E6 -solut kykenevät tukemaan erilaisten virusten replikaatiota, ne helpottavat yhdisteiden seulontaa ja viruslääkkeiden tehon arviointia. Niiden rooli kliinisissä tutkimuksissa ulottuu myös deksametasonin kaltaisten tulehduskipulääkkeiden arviointiin ja pgp-geenin koodaaman P-glykoproteiinin (pgp-proteiini) kaltaisten geenituotteiden tutkimiseen. Vero E6 -soluista puuttuu interferoni-β-geeni, mikä osittain selittää niiden suuren alttiuden virusinfektioille; tämä puute estää niitä muodostamasta tehokasta synnynnäistä virusvasta-ainetta. Yhteenvetona voidaan todeta, että Vero E6 -solut ovat arvokas resurssi virologian ja biolääketieteen alalla, sillä ne tarjoavat monipuolisen alustan viruslääkkeiden seulontaan, Verossa tapahtuvan replikaation tutkimiseen ja auttavat ymmärtämään retrovirusten sekvenssejä.
Organism	Chlorocebus sabaeus (vihreä apina)
Tissue	Normaali munuainen

Ominaisuudet

Age	Aikuiset
Morphology	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	Vero E6 (Cytionin luettelonumero 305008)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711

Product sheet

Vero E6-solut | 305008

CellosaurusAccession	CVCL_0574

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Vero E6-solut | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.