

Vero E6-solut | 305008

Yleisiä tietoja

Description

Vero E6 -solut, jotka tunnetaan myös nimellä Vero C1008 tai Vero 76 kloonit E6, ovat jatkuva epiteelisolulinja, joka on peräisin afrikkalaisen vihreän apinan, *Chlorocebus sabaeus*, munuaisista. Vero-kloonit E6, Vero-solujen alalinjat, 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.

Solulinjat ovat ratkaisevan tärkeitä rokotteiden, kuten japanin enkefaliittirokotteiden, tuotannossa, koska ne pystyvät viljelemään ja eristämään viruksia. Soluilla on ollut keskeinen rooli COVID-terapeuttisten lääkkeiden kehittämisessä, mukaan lukien polymeraasintäjä remdesivirin testaus. 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.

Yhteenvedon 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

Säätelytiedot

Citation Vero E6 (Cytionin luettelonumero 305008)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

Vero E6-solut | 305008

CellosaurusAccession CVCL_0574

Biomolekyyli tiedot

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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Vero E6-solut | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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 tarttuvaa, 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

Vero E6-solut | 305008

Storage Conditions

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.