Product sheet

Cellule Vero E6 | 305008

Informazioni generali

Description	Le cellule Vero E6, note anche come Vero C1008 o Vero 76 clone E6, sono una linea continua di cellule epiteliali derivate dal rene della scimmia verde africana, Chlorocebus sabaeus. Il clone Vero E6, una sotto-linea di cellule Vero, è particolarmente noto per la sua utilità nella ricerca virologica grazie alla sua elevata suscettibilità a un'ampia gamma di virus, tra cui i coronavirus come SARS-CoV e SARS-CoV-2, il virus Ebola e il virus Zika. La linea cellulare è fondamentale per la produzione di vaccini, come quelli per l'encefalite giapponese, grazie alla sua capacità di coltura e isolamento del virus. Le cellule hanno svolto un ruolo fondamentale nello sviluppo dei farmaci COVID, compresa la sperimentazione dell'inibitore della polimerasi remdesivir. Grazie alla loro capacità di supportare la replicazione di una varietà di virus, le cellule Vero E6 facilitano lo screening dei composti e la valutazione dell'efficacia antivirale. Il loro ruolo negli studi clinici si estende alla valutazione di farmaci antinfiammatori come il desametasone e allo studio di prodotti genici come la glicoproteina P (proteina pgp) codificata dal gene pgp. Le cellule Vero E6 mancano del gene dell'interferone-β, il che spiega in parte la loro elevata suscettibilità alle infezioni virali; questa carenza impedisce loro di montare un'efficace risposta antivirale innata. In sintesi, le cellule Vero E6 sono una risorsa preziosa nel campo della virologia e della biomedicina, in quanto forniscono una piattaforma versatile per lo screening antivirale, lo studio della replicazione in Vero e un aiuto nella ricerca della comprensione delle sequenze retrovirali.
Organism	Chlorocebus sabaeus (scimmia verde)
Tissue	Rene normale

Caratteristiche

Age	Adulti
Morphology	Epiteliale
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	Vero E6 (catalogo Cytion numero 305008)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711

Cellule Vero E6 | 305008

CellosaurusAccession	CVCL_0574

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1: 2 a 1: 4
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule Vero E6 | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.