Product sheet

Vero E6 ląstelės | 305008

Bendra informacija

Description	Vero E6 ląstelės, dar žinomos kaip Vero C1008 arba Vero 76 klonas E6, yra ištisinė epitelio ląstelių linija, gauta iš Afrikos žaliosios beždžionės Chlorocebus sabaeus inkstų. Vero klonas E6, Vero ląstelių sublinija, ypač pasižymi savo naudingumu virusologiniuose tyrimuose dėl didelio jautrumo įvairiems virusams, įskaitant koronavirusus, tokius kaip SARS-CoV ir SARS-CoV-2, Ebolos virusą ir Zikos virusą. Ląstelių linija yra labai svarbi gaminant vakcinas, pavyzdžiui, vakciną nuo japoniškojo encefalito, dėl gebėjimo kultivuoti ir izoliuoti virusus. Ląstelės atliko pagrindinį vaidmenį kuriant COVID terapinius preparatus, įskaitant polimerazės inhibitoriaus remdesiviro bandymus. Dėl savo gebėjimo palaikyti įvairių virusų replikaciją Vero E6 ląstelės palengvina junginių atranką ir antivirusinio veiksmingumo vertinimą. Jų vaidmuo klinikiniuose tyrimuose apima ir priešuždegiminių vaistų, tokių kaip deksametazonas, vertinimą bei genų produktų, tokių kaip P-glikoproteinas (pgp baltymas), kurį koduoja pgp genas, tyrimą. Vero E6 ląstelėse nėra interferono-β geno, o tai iš dalies paaiškina jų didelį jautrumą virusinėms infekcijoms; šis trūkumas neleidžia joms sukurti veiksmingo įgimto antivirusinio atsako. Apibendrinant galima teigti, kad Vero E6 ląstelės yra vertingas šaltinis virusologijos ir biomedicinos srityje, nes jos yra universali platforma antivirusinei atrankai, replikacijos Vero ląstelėse tyrimams ir padeda suprasti retrovirusų sekas.
Organism	Chlorocebus sabaeus (žalioji beždžionė)
Tissue	Normalus inkstas

Charakteristikos

Age	Suaugusiųjų
Morphology	Epitelis
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	Vero E6 (Cytion katalogo numeris 305008)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711
CellosaurusAccession	CVCL_0574

Vero E6 ląstelės | 305008

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 valandos
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Vero E6 ląstelės | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.