

Vero E6 šūnas | 305008

Vispārīga informācija

Description

Vero E6 šūnas, pazīstamas arī kā Vero C1008 vai Vero 76 klons E6, ir nepārtraukta epitēlija šūnu līnija, kas iegūta no Āfrikas zaļā pērtiķa *Chlorocebus sabaesus* nierēm. Vero klons E6, Vero šūnu apakšlīnija, ir īpaši pazīstama ar savu lietderību virusoloģijas pētījumos, jo tā ir ļoti jutīga pret dažādiem vīrusiem, tostarp pret koronavīriem, piemēram, SARS-CoV un SARS-CoV-2, Ebolas vīrusu un Zikas vīrusu.

Šūnu līnijai ir būtiska nozīme vakcīnu, piemēram, Japānas encefalīta vakcīnas, ražošanā, jo tā ir piemērota vīrusu kultivēšanai un izolēšanai. Šīm šūnām ir bijusi būtiska nozīme COVID terapeitisko līdzekļu izstrādē, tostarp polimerāzes inhibitora remdesivīra testēšanā. Vero E6 šūnas, kas spēj uzturēt dažādu vīrusu replikāciju, atvieglo savienojumu skrīningu un pretvīrusu efektivitātes novērtēšanu.

To nozīme klīniskajos izmēģinājumos ir arī pretiekaisuma zāļu, piemēram, deksametazona, novērtēšanā un tādu gēnu produktu kā P-glikoproteīna (pgp proteīna), ko kodē pgp gēns, izpētē. Vero E6 šūnām trūkst interferona-β gēna, kas daļēji izskaidro to augsto uzņēmību pret vīrusu infekcijām; šis trūkums neļauj tām izveidot efektīvu iedzīmtu pretvīrusu reakciju.

Kopumā Vero E6 šūnas ir vērtīgs resurss virusoloģijas un biomedicīnas jomā, nodrošinot daudzpusīgu platformu pretvīrusu skrīningam, replikācijas izpētei Vero un palīdzot izprast retrovīrusu sekvences.

Organism Chlorocebus sabaesus (Zaļais pērtiķis)

Tissue Normāla niere

Raksturojums

Age Pieaugušo

Morphology Epitēlija

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Vero E6 (Cytion kataloga numurs 305008)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellSaurusAccession CVCL_0574

Vero E6 šūnas | 305008

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture MediumEMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements**

Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

22 stundas

Subculturing

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal

2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Vero E6 šūnas | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Vero E6 šūnas | 305008

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.