

Vero E6-celler | 305008

Generell informasjon

Description

Vero E6-celler, også kjent som Vero C1008 eller Vero 76 kloner E6, er en kontinuerlig linje av epitelceller som stammer fra nyrene til den afrikanske grønne apen, *Chlorocebus sabaues*. Vero-klonen E6, en underlinje av Vero-celler, er spesielt kjent for sin anvendelighet i virologisk forskning på grunn av sin høye følsomhet for en lang rekke virus, inkludert koronavirus som SARS-CoV og SARS-CoV-2, ebolaviruset og zikaviruset.

Cellelinjen er avgjørende i produksjonen av vaksiner, som for eksempel vaksinen mot japansk encefalitt, på grunn av sin evne til å dyrke og isolere virus. Cellene har spilt en sentral rolle i utviklingen av covid-19-behandlinger, blant annet i utprøvingen av polymerasehemmeren remdesivir. Vero E6-celler har evnen til å støtte replikasjon av en rekke ulike virus, noe som gjør det enklere å screene forbindelser og evaluere antiviral effekt.

Deres rolle i kliniske studier omfatter også vurdering av betennelsesdempende legemidler som deksametason og studier av genprodukter som P-glykoprotein (pgp-protein), som kodes av pgp-genet. Vero E6-celler mangler interferon- β -genet, noe som delvis forklarer deres høye mottakelighet for virusinfeksjoner; denne mangelen hindrer dem i å danne en effektiv medfødt antiviral respons.

Vero E6-celler er en verdifull ressurs innen virologi og biomedisin, og de utgjør en allsidig plattform for antiviral screening, studier av replikasjon i Vero og bidrar til å forstå retrovirale sekvenser.

Organism Chlorocebus sabaues (grønn ape)

Tissue Normal nyre

Kjennetegn

Age Voksen

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation Vero E6 (Cytion katalognummer 305008)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0574

Vero E6-celler | 305008

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 22 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1: 2 til 1: 4

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

Vero E6-celler | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Vero E6-celler | 305008

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.