Product sheet

Komórki Vero E6 | 305008

Informacje ogólne

Description	Komórki Vero E6, znane również jako Vero C1008 lub Vero 76 klon E6, to ciągła linia komórek nabłonkowych pochodzących z nerki afrykańskiej małpy zielonej Chlorocebus sabaeus. Klon Vero E6, podlinia komórek Vero, jest szczególnie znany ze swojej użyteczności w badaniach wirusologicznych ze względu na wysoką podatność na szeroki zakres wirusów, w tym koronawirusy, takie jak SARS-CoV i SARS-CoV-2, wirus Ebola i wirus Zika. Linia komórkowa ma kluczowe znaczenie w produkcji szczepionek, takich jak szczepionka przeciwko japońskiemu zapaleniu mózgu, ze względu na ich zdolność do hodowli i izolacji wirusów. Komórki te odegrały kluczową rolę w rozwoju terapii COVID, w tym w testowaniu inhibitora polimerazy remdesivir. Dzięki zdolności do wspierania replikacji różnych wirusów, komórki Vero E6 ułatwiają badania przesiewowe związków i ocenę skuteczności przeciwwirusowej. Ich rola w badaniach klinicznych rozciąga się na ocenę leków przeciwzapalnych, takich jak deksametazon i badanie produktów genowych, takich jak glikoproteina P (białko pgp) kodowana przez gen pgp. Komórkom Vero E6 brakuje genu interferonu-β, co częściowo wyjaśnia ich wysoką podatność na infekcje wirusowe; niedobór ten uniemożliwia im wytworzenie skutecznej wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej. Podsumowując, komórki Vero E6 są cennym zasobem w dziedzinie wirusologii i biomedycyny, zapewniając wszechstronną platformę do badań przesiewowych przeciwwirusowych, badania replikacji w Vero i pomagając w dążeniu do zrozumienia sekwencji retrowirusowych.
Organism	Chlorocebus sabaeus (małpa zielona)
Tissue	Normalna nerka

Charakterystyka

Age	Dorosły
Morphology	Nabłonek
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	Vero E6 (numer katalogowy Cytion 305008)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711

Komórki Vero E6 | 305008

CellosaurusAccession	CVCL_0574

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 godziny
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Vero E6 | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Vero E6 | 305008

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.