

Bunky Vero E6 | 305008**Všeobecné informácie****Description**

Bunky Vero E6, známe aj ako Vero C1008 alebo Vero 76 klon E6, sú súvislou líniou epitelových buniek odvodených z obličiek africkej zelenej opice *Chlorocebus sabaeus*. Klon Vero E6, sublínia buniek Vero, je obzvlášť známy pre svoju užitočnosť vo virologickom výskume vďaka svojej vysokej citlivosti na širokú škálu vírusov vrátane koronavírusov ako SARS-CoV a SARS-CoV-2, vírusu Ebola a vírusu Zika.

Bunková línia je kľúčová pri výrobe vakcín, napríklad vakcíny proti japonskej encefalitíde, vďaka svojej schopnosti kultivovať a izolovať vírusy. Bunky zohrali kľúčovú úlohu pri vývoji liečiv COVID vrátane testovania inhibítora polymerázy remdesiviru. Vďaka svojej schopnosti podporovať replikáciu rôznych vírusov uľahčujú bunky Vero E6 skrining zlúčenín a hodnotenie antivírusovej účinnosti.

Ich úloha v klinických skúškach sa rozširuje na hodnotenie protizápalových liekov, ako je dexametazón, a štúdium génových produktov, ako je proteín P-glykoproteín (pgp) kódovaný génom *pgp*. Bunky Vero E6 nemajú gén pre interferón- β , čo čiastočne vysvetľuje ich vysokú náchylnosť na vírusové infekcie; tento nedostatok im bráni vytvoriť účinnú vrodenu protívírusovú odpoveď.

Celkovo sú bunky Vero E6 cenným zdrojom v oblasti virológie a biomedicíny, poskytujú univerzálnu platformu na antivírusový skrining, štúdium replikácie vo Vero a pomáhajú pri hľadaní pochopenia retrovírusových sekvencií.

Organism Chlorocebus sabaeus (zelená opica)

Tissue Normálna oblička

Charakteristika

Age Dospelí

Morphology Epitelové

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation Vero E6 (katalógové číslo Cytion 305008)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0574

Bunky Vero E6 | 305008**Biomolekulárne údaje****Spracovanie**

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

Supplements Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 22 hodín

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky Vero E6 | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky Vero E6 | 305008

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.