

**Celice Vero E6 | 305008****Splošne informacije****Description**

Celice Vero E6, znane tudi kot Vero C1008 ali Vero 76 klon E6, so neprekinjena linija epiteljskih celic, pridobljenih iz ledvic afriške zelene opice *Chlorocebus sabaues*. Klon Vero E6, podlinija celic Vero, je zaradi svoje visoke občutljivosti na številne viruse, vključno s koronavirusi, kot sta SARS-CoV in SARS-CoV-2, virusom Ebola in virusom Zika, še posebej znan za uporabo v viroloških raziskavah.

Celična linija je zaradi sposobnosti gojenja in izolacije virusov ključnega pomena pri proizvodnji cepiv, kot so cepiva za cepivo proti japonskemu encefalitisu. Celice so imele ključno vlogo pri razvoju terapevtskih zdravil COVID, vključno s testiranjem zaviralca polimeraze remdesivir. Celice Vero E6 so sposobne podpirati razmnoževanje različnih virusov, zato olajšajo pregledovanje spojin in ocenjevanje protivirusne učinkovitosti.

Njihova vloga v kliničnih preskušanjih se razteza na ocenjevanje protivnetnih zdravil, kot je deksametazon, in preučevanje genskih produktov, kot je protein P-glikoprotein (pgp), ki ga kodira gen pgp. Celice Vero E6 nimajo gena za interferon- $\beta$ , kar delno pojasnjuje njihovo visoko dovzetnost za virusne okužbe; ta pomanjkljivost jim onemogoča učinkovit prirojen protivirusni odziv.

Če povzamemo, so celice Vero E6 dragocen vir na področju virologije in biomedicine, saj zagotavljajo vsestransko platformo za protivirusno presejanje, preučevanje replikacije v Vero in pomagajo pri iskanju razumevanja retrovirusnih zaporedij.

**Organism** Chlorocebus sabaues (zelena opica)

**Tissue** Normalna ledvica

**Značilnosti**

**Age** Odrasli

**Morphology** Epiteljski

**Growth properties** Pripadajoče

**Regulativni podatki**

**Citation** Vero E6 (kataloška številka Cytion 305008)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9534

**CellosaurusAccession** CVCL\_0574

**Celice Vero E6 | 305008****Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 22 ur

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## Celice Vero E6 | 305008

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## Celice Vero E6 | 305008

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.