

## VERO rakud | 605372

## Üldine teave

## Description

VERO rakke kasutatakse laialdaselt vaktsiinide väljatöötamisel, viirusinfektsioonide või malaaria uurimisel ning kasvajate immunoloogia ja immunoteraapia uuringutes. VERO rakud saadi 1960. aastatel Jaapani Chiba ülikooli teadlaste rühma poolt Aafrika roheline ahvi neerudest.

VERO-rakkude üks kriitilisi omadusi on nende kiire kasvukiirus, mille puhul populatsiooni kahekordistumise aeg on ligikaudu 24 tundi. See koos nende stabiilsuse ja kõrge viiruste tiitri tasemega teeb neist ideaalse valiku vaktsiini tootmiseks. Ühe silmapaistva näitena võib tuua, et Vero rakkudest saadud vaktsiini Jaapani entsefaliidi vastu kasutatakse laialdaselt ja see on litsentseeritud paljudes riikides kogu maailmas.

Vero rakud olid kesksel kohal paljude nakkushaiguste, sealhulgas punetiste, Ross Riveri viiruse, herpes simplex'i, leetrite ja polioviruse vaktsiinide väljatöötamisel. Vero rakud on tuntud oma võime poolest toota, kasvatada ja säilitada viirusi optimeeritud kultuuritingimustes, mis teeb neist hindamatu ressursi viiruslike vaktsiinide tootmisel. Vero rakkude roll ulatub viirusvektorite genereerimiseni, mis on oluline nii vaktsiinide arendamiseks kui ka koetehnoloogiliste rakenduste jaoks, ning viiruste isoleerimiseni.

Erinevad VERO rakuliinid, nagu Vero 76 ja subkloon Vero E6, pakuvad unikaalseid omadusi, mis sobivad erinevateks uurimis- ja tootmisvajadusteks. Vero 76 rakud on tuntud oma tugeva kasvu poolest ja neid kasutatakse laialdaselt vaktsiinide tootmisel tänu nende suurele viiruse saagikusele. Vero E6-l on seevastu spetsiifilised omadused, mis muudavad selle eriti kasulikuks teatavate viiruste uurimiseks, sealhulgas kõrgendatud tundlikkus Ebola- ja SARS-CoV-2 viiruse suhtes. Selle alamklooni ainulaadne suhtlemine viirustega muudab selle väärtuslikuks viiruspatogeneesi uuringutes ja viirusevastaste ravimite sõelumisel.

**Organism** Chlorocebus sabaeus (roheline ahv)

**Tissue** Neerud

**Applications** Transfektsiooni peremees

**Synonyms** Vero, VeroCCL81, Vero 81, Verda reno

## Omadused

**Age** Täiskasvanud

**Gender** Naised

**Morphology** Epiteelilaadsed

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

## VERO rakud | 605372

**Citation** VERO (Cytioni katalooginumber 605372)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 60711**CellosaurusAccession** CVCL\_0059

## Biomolekulaarsed andmed

**Receptors expressed** Vaatamata sellele, et VERO rakuliin ei ole interferoonipuudulik, omab see interferoon-alfa/beta retseptorit, mis võimaldab neil reageerida normaalselt, kui nende kultuurikeskkonda lisatakse rekombinantset interferooni.**Viruses** Verotoksiinide tuvastamine veiselihaklihas**Virus susceptibility** Polioviiirus 1, 2, 3, Getah, Ndumu, Pixuna, Ross River, Semliki Forest, Paramaribo, Kokobera, Modoc, Murutucu, Germiston, Guaroa, Pongola, Tacaribe, SV-5, SV40, rubeola, rubellaviirus, reovirus 1, 2, 3, simian adenoviirused**Reverse transcriptase** Negatiivne**Mutational profile** Vero rakkudel on homosügootne 9-Mb deletsioon kromosoomil 12, mille tulemuseks on I tüüpi interferooni geenikompleksi ja tsükliinist sõltuvate kinaasi inhibiitorite CDKN2A ja CDKN2B kadumine.

## Töötlemine

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>

## VERO rakud | 605372

**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialli kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialli ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**37°C, 5%<sub>CO2</sub>, niisutatud atmosfäär.**Flask Coating**

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

## VERO rakud | 605372

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.