

VERO-kennot | 605372

Yleisiä tietoja

Description

VERO-soluja käytetään laajalti rokotteiden kehittämisessä, virusinfektioiden tai malarian tutkimuksessa sekä kasvainten immunologian ja immunoterapian tutkimuksissa. VERO-solut saatiin afrikkalaisen vihreän apinan munuaisesta 1960-luvulla japanilaisen Chiban yliopiston tutkijaryhmän toimesta.

Yksi VERO-solujen kriittisistä ominaisuuksista on niiden nopea kasvuvauhti, sillä niiden populaatio kaksinkertaistuu noin 24 tunnissa. Tämä yhdistettynä niiden vakauteen ja korkeisiin virustittereihin tekee niistä ihanteellisen valinnan rokotteiden tuotantoon. Esimerkkinä voidaan mainita, että Vero-soluista saatua rokotetta japanin aivotulehdistusta vastaan käytetään laajalti ja se on lisensoitu monissa maissa maailmanlaajuisesti.

Verosolut olivat keskeisessä asemassa kehitettäessä rokotteita lukuisia tartuntatauteja vastaan, kuten vihurirokkovirusta, Ross River -virusta, herpes simplex -virusta, tuhkarokkovirusta ja poliovirusta vastaan. Verosolut ovat tunnettuja virustuotantokyvystään, kasvustaan ja ylläpitokyvystään optimoiduissa viljelyolosuhteissa, mikä tekee niistä korvaamattoman arvokkaan resurssin virusrokotteiden tuotannossa. Verosolujen rooli ulottuu myös virusvektoreiden tuottamiseen, mikä on ratkaisevan tärkeää sekä rokotekehityksessä että kudostekniikan sovelluksissa, ja virusten eristämiseen.

Eri VERO-solulinjat, kuten Vero 76 ja Vero E6 -alaklooni, tarjoavat ainutlaatuisia ominaisuuksia, jotka soveltuvat erilaisiin tutkimus- ja tuotantotarpeisiin. Vero 76 -solut ovat tunnettuja voimakkaasta kasvustaan, ja niitä käytetään laajalti rokotteiden tuotannossa niiden suuren virustuottokyvyn vuoksi. Vero E6:lla puolestaan on erityisominaisuuksia, joiden ansiosta se on erityisen hyödyllinen tiettyjen virusten tutkimisessa, mukaan luettuna lisääntynyt herkkyys Ebola-virukselle ja SARS-CoV-2:lle. Tämän alakloonin ainutlaatuinen vuorovaikutus virusten kanssa tekee siitä arvokkaan viruspatogeneesitutkimuksissa ja viruslääkkeiden seulonnassa.

Organism Chlorocebus sabaeus (vihreä apina)

Tissue Munuaiset

Applications Transfektion isäntä

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

Ominaisuudet

Age Aikuiset

Gender Nainen

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

VERO-kennot | 605372

Säätelytiedot

Citation	VERO (Cytionin luettelonumero 605372)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711
CellosaurusAccession	CVCL_0059

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Vaikka VERO-solulinja ei ole interferonipuutteinen, sillä on interferoni-alfa/beta-reseptori, jonka ansiosta se reagoi normaalisti, kun sen elatusaineeseen lisätään rekombinanttiinterferonia.
Viruses	Viruksen verotoksiinin osoittaminen jauhelihasta
Virus susceptibility	Poliovirus 1, 2, 3, Getah, Ndumu, Pixuna, Ross River, Semliki Forest, Paramaribo, Kokobera, Modoc, Murutucu, Germiston, Guaroa, Pongola, Tacaribe, SV-5, SV40, rubeola, rubellavirus, reovirus 1, 2, 3, simian adenovirukset
Reverse transcriptase	Negatiivinen
Mutational profile	Vero-soluissa on kromosomissa 12 homotsygoottinen 9 Mb:n deletio, joka johtaa tyypin I interferonigeeniklusterin ja sykliini-riippuvaisten kinaasi-inhibiittorien CDKN2A ja CDKN2B häviämiseen.

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase

VERO-kennot | 605372

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density
 1×10^4 solua/cm²
Fluid renewal

2-3 kertaa viikossa

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

VERO-kennot | 605372

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 -- 196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.