

VERO ląstelės | 605372

Bendra informacija

Description

VERO ląstelės plačiai naudojamos kuriant vakcinas, tiriant virusines infekcijas ar maliariją, atliekant navikų imunologijos ir imunoterapijos tyrimus. VERO ląsteles iš Afrikos žaliųjų beždžionių inkstų 1960 m. išvedė japonų mokslininkų grupė Čibos universitete (Japonija).

Viena iš svarbiausių VERO ląstelių savybių yra jų greitas augimas, populiacija padvigubėja maždaug per 24 valandas. Dėl to, kartu su jų stabilumu ir dideliu viruso titru, jos yra idealus pasirinkimas vakcinoms gaminti. Ryškus pavyzdys - iš Vero ląstelių gauta vakcina nuo japoniškojo encefalito plačiai naudojama ir licencijuota daugelyje pasaulio šalių.

Vero ląstelės buvo labai svarbios kuriant vakcinas nuo daugybės infekcinių ligų, įskaitant raudonukės virusą, Ross River virusą, herpes simplex virusą, tymų virusą ir poliovirusą. Vero ląstelės garsėja savo gebėjimu gaminti virusus, augti ir palaikyti optimaliomis kultūros sąlygomis, todėl jos yra neįkainojamas virusinių vakcinų gamybos šaltinis. Vero ląstelių vaidmuo apima ir virusų vektorių kūrimą, kuris yra labai svarbus tiek vakcinų kūrimui, tiek audinių inžinerijai, ir virusų izoliavimą.

Skirtingos VERO ląstelių linijos, pavyzdžiui, Vero 76 ir subklonas Vero E6, pasižymi unikaliomis savybėmis, tinkamomis įvairiems tyrimų ir gamybos poreikiams. Vero 76 ląstelės pasižymi stipriu augimu ir yra plačiai naudojamos vakcinų gamyboje dėl didelio virusų išėigos pajėgumo. Kita vertus, "Vero E6" pasižymi specifinėmis savybėmis, dėl kurių yra ypač naudingos tiriant tam tikrus virusus, įskaitant didesnį jautrumą Ebolos virusui ir SARS-CoV-2. Dėl unikalios šio subklono sąveikos su virusais jis vertingas virusų patogenezės tyrimams ir antivirusinių vaistų atrankai.

Organism Chlorocebus sabaeus (žalioji beždžionė)

Tissue Inkstai

Applications Transfekcijos šeimininkas

Synonyms Vero, VeroCCL81, Vero 81, Verda reno

Charakteristikos

Age Suaugusiųjų

Gender Moteris

Morphology Į epitelį panašus

Growth properties Viensluoksnis, priglundęs

Reguliavimo duomenys

VERO ląstelės | 605372

Citation	VERO (Cytion katalogo numeris 605372)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	60711
CellosaurusAccession	CVCL_0059

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Nepaisant to, kad VERO ląstelių linijai netrūksta interferono, ji turi interferono alfa ir beta receptorių, todėl į jų terpę pridėjus rekombinantinio interferono, jos gali normaliai reaguoti.
Viruses	Verotoksino aptikimas maltoje jautienoje
Virus susceptibility	Poliovirusas 1, 2, 3, Getah, Ndumu, Pixuna, Ross River, Semliki Forest, Paramaribo, Kokobera, Modoc, Murutucu, Germiston, Guaroa, Pongola, Tacaribe, SV-5, SV40, rubeola, rubellavirusas, reovirusas 1, 2, 3, šimpanzių adenovirusai
Reverse transcriptase	Neigiamas
Mutational profile	Vero ląstelėse yra homozigotinė 9 Mb 12 chromosomos delecija, dėl kurios prarandamas I tipo interferono genų klasteris ir nuo ciklino priklausomos kinazės inhibitoriai CDKN2A ir CDKN2B.

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

VERO ląstelės | 605372

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

VERO ląstelės | 605372

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.