

VERO šūnas | 605372

Vispārīga informācija

Description

VERO šūnas tiek plaši izmantotas vakcīnu izstrādē, vīrusu infekciju un malārijas pētījumos, kā arī audzēju imunoloģijā un imūnterapijas pētījumos. VERO šūnas no Āfrikas zaļo pērtiķu nierēm pagājušā gadsimta sešdesmitajos gados ieguva japāņu zinātnieku grupa Čibas Universitātē Japānā.

Viena no svarīgākajām VERO šūnu īpašībām ir to straujš augšanas ātrums, jo to populācijas dubultošanās laiks ir aptuveni 24 stundas. Tas kopā ar to stabilitāti un augstiem vīrusu titriem padara tās par ideālu izvēli vakcīnu ražošanai. Kā spilgtu piemēru var minēt no Vero šūnām iegūtu vakcīnu pret Japānas encefalītu, kas tiek plaši izmantota un licencēta daudzās pasaules valstīs.

Vero šūnas bija izšķirošas daudzu infekcijas slimību, tostarp masaliņu vīrusa, Ross River vīrusa, herpes simplex vīrusa, masalu vīrusa un poliovīrusa, vakcīnu izstrādē. Vero šūnas ir slavenas ar savu spēju ražot, augt un uzturēt vīrusus optimizētos kultūras apstākļos, padarot tās par nenovērtējamu resursu vīrusu vakcīnu ražošanā. Vero šūnu nozīme ir arī vīrusu vektoru radīšanā, kas ir ļoti svarīgi gan vakcīnu izstrādē, gan audu inženierijā, kā arī vīrusu izolēšanā.

Dažādām VERO šūnu līnijām, piemēram, Vero 76 un subklonam Vero E6, piemīt unikālas īpašības, kas piemērotas dažādām pētniecības un ražošanas vajadzībām. Vero 76 šūnas ir pazīstamas ar savu spēcīgo augšanu, un tās plaši izmanto vakcīnu ražošanā, jo spēj iegūt lielu vīrusu daudzumu. Savukārt Vero E6 šūnām piemīt īpašas īpašības, kas padara tās īpaši noderīgas noteiktu vīrusu izpētei, tostarp paaugstināta jutība pret Ebolas vīrusu un SARS-CoV-2 vīrusu. Šī subklona unikālā mijiedarbība ar vīrusiem padara to vērtīgu vīrusu patoģenēzes pētījumos un pretvīrusu zāļu skrīningā.

Organism Chlorocebus sabaeus (Zaļais pērtiķis)

Tissue Nieres

Applications Transfekcijas saimnieks

Synonyms Vero, VeroCCL81, Vero 81, Verda reno

Raksturojums

Age Pieaugušo

Gender Sievietes

Morphology Epitēlijevīdīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

VERO šūnas | 605372

Citation VERO (Cytion kataloga numurs 605372)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 60711**CellosaurusAccession** CVCL_0059

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Lai gan VERO šūnu līnijai nav interferona deficīta, tai piemīt interferona alfa/beta receptori, kas ļauj tām normāli reaģēt, kad to barotnei pievieno rekombinēto interferonu.**Viruses** Verotoksīna noteikšana maltas liellopu gaļas vīrusā**Virus susceptibility** Poliovīrusi 1, 2, 3, Getah, Ndumu, Pixuna, Ross River, Semliki Forest, Paramaribo, Kokobera, Modoc, Murutucu, Germiston, Guaroa, Pongola, Tacaribe, SV-5, SV40, rubeola, rubellavīrusi, reovīrusi 1, 2, 3, simian adenovīrusi**Reverse transcriptase** Negatīvs**Mutational profile** Vero šūnām ir homozigotiska 9 Mb delecija 12. hromosomā, kas izraisa I tipa interferona gēnu klastera un ciklīnneatkarīgo kināžu inhibitoru CDKN2A un CDKN2B zudumu.

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaigā barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm²

VERO šūnas | 605372

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

VERO šūnas | 605372

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.