

Células Vero E6 | 305008**Informações gerais****Description**

As células Vero E6, também conhecidas como Vero C1008 ou Vero 76 clone E6, são uma linha contínua de células epiteliais derivadas do rim do macaco verde africano, *Chlorocebus sabaeus*. O clone Vero E6, uma sub-linha de células Vero, é particularmente conhecido pela sua utilidade na investigação virológica devido à sua elevada suscetibilidade a uma vasta gama de vírus, incluindo coronavírus como o SARS-CoV e o SARS-CoV-2, o vírus Ébola e o vírus Zika.

A linha celular é crucial na produção de vacinas, como as da vacina contra a encefalite japonesa, devido à sua capacidade de cultura e isolamento de vírus. As células têm desempenhado um papel fundamental no desenvolvimento de terapêuticas contra a COVID, incluindo o teste do inibidor da polimerase remdesivir. Com a sua capacidade de suportar a replicação de uma variedade de vírus, as células Vero E6 facilitam o rastreio de compostos e a avaliação da eficácia antiviral.

O seu papel nos ensaios clínicos estende-se à avaliação de medicamentos anti-inflamatórios como a dexametasona e ao estudo de produtos genéticos como a glicoproteína P (proteína pgp) codificada pelo gene pgp. As células Vero E6 não possuem o gene do interferão- β , o que explica em parte a sua elevada suscetibilidade às infeções virais; esta deficiência impede-as de dar uma resposta antiviral inata eficaz.

Em resumo, as células Vero E6 são um recurso valioso no domínio da virologia e da biomedicina, proporcionando uma plataforma versátil para o rastreio antivírico, o estudo da replicação em Vero e ajudando na procura da compreensão das sequências retrovirais.

Organism Chlorocebus sabaeus (Macaco verde)

Tissue Rim normal

Caraterísticas

Age Adulto

Morphology Epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation Vero E6 (número de catálogo Cytion 305008)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

Células Vero E6 | 305008

CellosaurusAccession CVCL_0574

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	22 horas
----------------------	----------

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
---------------------	--

Split ratio	1: 2 a 1: 4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células Vero E6 | 305008

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células Vero E6 | 305008

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.