

Клетки MRC-5 | 300395

Обща информация

Description

Клетките MRC-5, човешка белодробна фибробластна клетъчна линия, получена от белодробната тъкан на 14-седмичен мъжки плод през 1966 г., се използват широко при производството на някои ваксини, включително за хепатит А, полиомиелит, бяс и др.

Възприемчивостта към различни човешки вируси, по-специално към човешкия полиовирус 1, вируса на херпес симплекс и вируса на везикуларния стоматит, подчертава ролята на клетките MRC5 при откриването на антивирусни средства, вирусни ваксини, безопасността на ваксините и репликацията на вирусите. Клетъчните линии MRC-5 и WI-38 все още се използват при производството на ваксини срещу варицела, рубеола, хепатит А и версия на ваксина срещу бяс. Неотдавна клетките MRC-5 бяха модифицирани, за да експресират рецептора ACE2, и бяха ключови в изследванията на SARS. Модифицираните човешки клетки MRC5 с рецептор ACE2 позволяват на учените да изследват как вирусът SARS-CoV навлиза и се репликира в клетките на гостоприемника. Тази работа е от съществено значение за разбирането на поведението на вируса и за разработването на целенасочени антивирусни агенти и лечения.

Полезността на феталната клетъчна линия MRC5 се простира отвъд производството на ваксини и включва потенциална роля в изследванията на рака, като клетъчната линия се използва в проучвания, изследващи туморната микросреда и взаимодействията между раковите клетки, благодарение на способността им да се диференцират в множество клетъчни типове, включително остеоцити и хондроцити. Това е довело до предположения за сходството им с мезенхимните стволови клетки (МСК), като се има предвид тяхната морфология, подобна на фибробласт, и поддържането на нормален диплоиден кариотип при продължително ин витро разширяване.

Organism

Човек

Tissue

Бял дроб

Applications

Производство на ваксини

Synonyms

MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, клетъчен щам 5 на Съвета за медицински изследвания

Характеристики

Age

Плод

Gender

Мъжки

Cell type

Фибробласти

Growth properties

Придържачи се

Клетки MRC-5 | 300395

Регулаторни данни

Citation	MRC-5 (каталожен номер 300395 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0440

Биомолекулярни данни

Virus susceptibility	Нечувствителен към инфекция с коронавирус 2 на SARS (SARS-CoV-2) (COVID-19)
Karyotype	MRC5 е диплоидна клетъчна линия с модален хромозомен номер 46.

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MRC-5 | 300395

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '29:02:01

B*: '07:02:01, '44:02:01

C*: '05:01:01, '07:02:01

DRB1*: '04:08:01, '15:01:01G

DQA1*: '01:02:01, '03:03:01

DQB1*: '03:01:01, '06:02:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01