

## Buňky MRC-5 | 300395

## Obecné informace

## Description

Buňky MRC-5, lidská plicní fibroblastová buněčná linie získaná z plicní tkáně 14týdenního mužského plodu v roce 1966, se hojně využívají při výrobě některých vakcín, včetně vakcín proti hepatitidě A, dětské obrně, vzteklině a dalších.

Citlivost k různým lidským virům, zejména k lidskému polioviru 1, viru herpes simplex a viru vezikulární stomatitidy, podtrhuje úlohu buněk MRC5 při objevování antivirotik, virových vakcín, bezpečnosti vakcín a replikace virů. Buněčné linie MRC-5 a WI-38 se dodnes používají při výrobě vakcín proti planým neštovicím, zarděnkám, hepatitidě A a jedné verze vakcíny proti vzteklině. Nedávno byly buňky MRC-5 modifikovány tak, aby exprimovaly receptor ACE2, a byly klíčové pro výzkum SARS. Modifikované lidské buňky MRC5 s receptorem ace2 umožňují vědcům studovat, jak virus SARS-CoV vstupuje do hostitelských buněk a jak se v nich replikuje. Tato práce je zásadní pro pochopení chování viru a pro vývoj cílených antivirových látek a léčby.

Využitelnost fetální buněčné linie MRC5 přesahuje rámec výroby vakcín a zahrnuje i potenciální roli ve výzkumu rakoviny, kdy se buněčná linie využívá ve studiích zkoumajících nádorové mikroprostředí a interakce nádorových buněk díky své schopnosti diferencovat se na více buněčných typů, včetně osteocytů a chondrocytů. To vedlo ke spekulacím o jejich podobnosti s mezenchymálními kmenovými buňkami (MSC) vzhledem k jejich morfologii podobné fibroblastům a zachování normálního diploidního karyotypu při rozsáhlé expanzi in vitro.

**Organism** Člověk

**Tissue** Plíce

**Applications** Výroba vakcín

**Synonyms** MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, buněčný kmen Medical Research Council-5

## Charakteristika

**Age** Plod

**Gender** Muži

**Cell type** Fibroblasty

**Growth properties** Adherentní

## Regulační údaje

**Citation** MRC-5 (katalogové číslo Cytion 300395)

**Buňky MRC-5 | 300395**

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0440

**Biomolekulární data**

**Virus susceptibility** Necitlivý k infekci koronavirem SARS 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)

**Karyotype** MRC5 je diploidní buněčná linie s modálním počtem chromozomů 46.

**Zpracování**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

## Buňky MRC-5 | 300395

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při  $300 \times g$  po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Buňky MRC-5 | 300395****Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 11,14  
**D16S539:** 9,11  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 10,11  
**TH01:** 8  
**TPOX:** 8  
**vWA:** 15  
**D3S1358:** 15,17  
**D21S11:** 31.2  
**D18S51:** 15,21  
**Penta E:** 12,16  
**Penta D:** 12  
**D8S1179:** 13  
**FGA:** 21,23  
**D6S1043:** 11,19  
**D2S1338:** 20  
**D12S391:** 20,22  
**D19S433:** 14,15

**Alely HLA**

**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