

MRC-5-celler | 300395

Generel information

Description

MRC-5-celler, en human lungefibroblastcellelinje, der blev afledt af lungevævet fra et 14 uger gammelt mandligt foster i 1966, bruges i vid udstrækning i produktionen af visse vacciner, herunder dem mod hepatitis A, polio, rabies med mere.

Modtageligheden over for forskellige humane vira, især human poliovirus 1, herpes simplex-virus og vesikulær stomatitis-virus, understreger MRC5-cellernes rolle i opdagelsen af antivirale midler, virusvacciner, vaccinesikkerhed og virusreplikation. MRC-5- og WI-38-cellelinjer bruges stadig til at producere vacciner mod varicella, rubella, hepatitis A og en version af rabiesvaccinen i dag. For nylig blev MRC-5-celler modificeret til at udtrykke ACE2-receptoren, og de har været vigtige i SARS-forskningen. De modificerede MRC5 humane ace2-celler gør det muligt for forskere at studere, hvordan SARS-CoV-virus kommer ind i og formerer sig i værtsceller. Dette arbejde har været afgørende for at forstå virussens adfærd og udvikle målrettede antivirale midler og behandlinger.

MRC5-fostercellelinjens anvendelighed rækker ud over vaccineproduktion og omfatter potentielle roller inden for kræftforskning, hvor cellelinjen anvendes i undersøgelser, der udforsker tumormikromiljøet og kræftcelleinteraktioner på grund af deres evne til at differentiere sig til flere celletyper, herunder osteocytter og kondrocytter. Dette har ført til spekulationer om deres lighed med mesenkymale stamceller (MSC'er) på grund af deres fibroblastlignende morfologi og opretholdelse af en normal diploid karyotype over omfattende in vitro-ekspansion.

Organism

Menneske

Tissue

Lunge

Applications

Produktion af vacciner

Synonyms

MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medical Research Council cell strain-5

Karakteristika

Age

Foster

Gender

Mand

Cell type

Fibroblast

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

MRC-5-celler | 300395

Citation MRC-5 (Cytion katalognummer 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Biomolekylære data

Virus susceptibility Ikke modtagelig for SARS coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infektion (COVID-19)

Karyotype MRC5 er en diploid cellelinje med et modalt kromosomtallet på 46.

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

MRC-5-celler | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

MRC-5-celler | 300395

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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