Product sheet

MRC-5-Zellen | 300395

Allgemeine Informationen

Description	MRC-5-Zellen, eine menschliche Lungenfibroblasten-Zelllinie, die 1966 aus dem Lungengewebe eines 14 Wochen alten männlichen Fötus gewonnen wurde, werden in großem Umfang für die Herstellung bestimmter Impfstoffe verwendet, u. a. gegen Hepatitis A, Polio und Tollwut. Die Anfälligkeit für verschiedene menschliche Viren, insbesondere für das humane Poliovirus 1, das Herpes-Simplex-Virus und das Vesikuläre Stomatitis-Virus, unterstreicht die Rolle der MRC-5-Zellen bei der Entdeckung von Virostatika, viralen Impfstoffen, der Impfstoffsicherheit und der Virusreplikation. MRC-5- und WI-38-Zelllinien werden auch heute noch zur Herstellung von Impfstoffen gegen Varizellen, Röteln, Hepatitis A und einer Version des Tollwutimpfstoffs verwendet. Kürzlich wurden MRC-5-Zellen so modifiziert, dass sie den ACE2-Rezeptor exprimieren und in der SARS-Forschung eine Schlüsselrolle spielen. Anhand der modifizierten menschlichen MRC5-Ace2-Zellen können Wissenschaftler untersuchen, wie das SARS-CoV-Virus in Wirtszellen eindringt und sich dort vermehrt. Diese Arbeit ist für das Verständnis des Verhaltens des Virus und die Entwicklung gezielter antiviraler Mittel und Behandlungen von entscheidender Bedeutung. Der Nutzen der fötalen MRC5-Zelllinie geht über die Impfstoffherstellung hinaus und umfasst auch eine potenzielle Rolle in der Krebsforschung. Die Zelllinie wird in Studien zur Erforschung der Mikroumgebung von Tumoren und der Interaktionen zwischen Krebszellen eingesetzt, da sie sich in mehrere Zelltypen, einschließlich Osteozyten und Chondrozyten, differenzieren kann. Dies hat zu Spekulationen über ihre Ähnlichkeit mit mesenchymalen Stammzellen (MSCs) geführt, da sie eine fibroblastenähnliche Morphologie aufweisen und bei extensiver In-vitro-Expansion einen normalen diploiden Karyotyp beibehalten.
Organism	Menschen
Tissue	Lunge
Applications	Herstellung von Impfstoffen
Synonyms	MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medical Research Council Zellstamm-5

Merkmale

Age	Fötus
Gender	Männlich
Cell type	Fibroblasten
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

MRC-5-Zellen | 300395

Citation	MRC-5 (Cytion-Katalognummer 300395)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0440

Biomolekulare Daten

Virus susceptibility	Nicht empfänglich für eine Infektion mit dem SARS-Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)
Karyotype	MRC5 ist eine diploide Zelllinie mit einer modalen Chromosomenzahl von 46.

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

MRC-5-Zellen | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**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

MRC-5-Zellen | 300395

HLA-Allele	**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