

Κύτταρα MRC-5 | 300395

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα MRC-5, μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά πνευμονικών ινοβλαστών που προέρχεται από τον πνευμονικό ιστό ενός αρσενικού εμβρύου 14 εβδομάδων το 1966, χρησιμοποιούνται ευρέως στην παραγωγή ορισμένων εμβολίων, συμπεριλαμβανομένων εκείνων για την ηπατίτιδα Α, την πολιομυελίτιδα, τη λύσσα και άλλα.

Η ευαισθησία σε διάφορους ανθρώπινους ιούς, ιδίως τον ιό της ανθρώπινης πολιομυελίτιδας 1, τον ιό του απλού έρπητα και τον ιό της φυσαλιδώδους στοματίτιδας, υπογραμμίζει το ρόλο των κυττάρων MRC5 στην ανακάλυψη αντι-ιικών φαρμάκων, ιικών εμβολίων, την ασφάλεια των εμβολίων και τον πολλαπλασιασμό των ιών. Οι κυτταρικές σειρές MRC-5 και WI-38 χρησιμοποιούνται ακόμη και σήμερα στην παραγωγή εμβολίων για την ανεμευλογιά, την ερυθρά, την ηπατίτιδα Α και μια έκδοση του εμβολίου κατά της λύσσας. Πρόσφατα, τα κύτταρα MRC-5 τροποποιήθηκαν ώστε να εκφράζουν τον υποδοχέα ACE2, και αποτέλεσαν το κλειδί στην έρευνα για το SARS. Τα τροποποιημένα ανθρώπινα κύτταρα MRC5 ace2 επιτρέπουν στους επιστήμονες να μελετήσουν τον τρόπο με τον οποίο ο ιός SARS-CoV εισέρχεται και πολλαπλασιάζεται στα κύτταρα του ξενιστή. Η εργασία αυτή είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της συμπεριφοράς του ιού και την ανάπτυξη στοχευμένων αντιικών παραγόντων και θεραπειών.

Η χρησιμότητα της εμβρυϊκής κυτταρικής σειράς MRC5 επεκτείνεται πέρα από την παραγωγή εμβολίων και περιλαμβάνει δυνητικούς ρόλους στην έρευνα για τον καρκίνο, με την κυτταρική σειρά να χρησιμοποιείται σε μελέτες που διερευνούν το μικροπεριβάλλον του όγκου και τις αλληλεπιδράσεις των καρκινικών κυττάρων, λόγω της ικανότητάς τους να διαφοροποιούνται σε πολλαπλούς κυτταρικούς τύπους, συμπεριλαμβανομένων των οστεοκυττάρων και των χονδροκυττάρων. Αυτό έχει οδηγήσει σε εικασίες σχετικά με την ομοιότητά τους με τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs), δεδομένης της μορφολογίας τους που μοιάζει με ινοβλάστες και της διατήρησης ενός φυσιολογικού διπλοειδούς καρυότυπου κατά την εκτεταμένη in vitro επέκταση.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Applications Παραγωγή εμβολίων

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, στέλεχος κυττάρων του Συμβουλίου Ιατρικής Έρευνας-5

Χαρακτηριστικά

Age Έμβρυο

Gender Άντρας

Cell type Ινοβλάστες

Growth properties Προσκολλημένο

Κύτταρα MRC-5 | 300395

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation MRC-5 (αριθμός καταλόγου Cytion 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Βιομοριακά δεδομένα

Virus susceptibility Μη ευαίσθητος στη μόλυνση από τον κοροναϊό SARS 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)

Karyotype Η MRC5 είναι μια διπλοειδής κυτταρική σειρά με μέσο αριθμό χρωμοσωμάτων 46.

Χειρισμός

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

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

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

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA
αλληλόμορφα**

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