

MRC-5 rakud | 300395

Üldine teave

Description

MRC-5 rakke, inimese kopsufibroblastide rakuliini, mis on saadud 1966. aastal 14-nädalase meessoost loote kopsukoos, kasutatakse laialdaselt teatavate vaktsiinide, sealhulgas A-hepatiidi, lastehalvatuse, marutaudi ja muude vaktsiinide tootmisel.

Tundlikkus erinevate inimviiruste, eelkõige inimese polioviiruse 1, herpes simplex'i viiruse ja vesikulaarse stomatiidi viiruse suhtes rõhutab MRC5 rakkude rolli viirusevastaste ravimite, viirusvaktsiinide, vaktsiinide ohutuse ja viiruste replikatsiooni avastamisel. MRC-5 ja WI-38 rakuliine kasutatakse tänapäevalgi varicella, punetiste, A-hepatiidi ja marutaudi vaktsiini ühe versiooni vaktsiinide tootmisel. Hiljuti muudeti MRC-5 rakke nii, et need ekspresseeriksid ACE2 retseptorit, ja need on olnud SARSi uurimisel võtmetähtsusega. Muudetud MRC5 inimese ace2 rakud võimaldavad teadlastel uurida, kuidas SARS-CoV viirus siseneb ja paljuneb peremehe rakkudes. See töö on olnud oluline viiruse käitumise mõistmiseks ning sihipäraste viirusevastaste ainete ja ravimeetodite väljatöötamiseks.

MRC5 loote rakuliini kasulikkus ulatub kaugemale vaktsiinide tootmisest ja hõlmab ka võimalikku rolli vähiuuringutes, kusjuures rakuliini kasutatakse uuringutes, kus uuritakse kasvajate mikrokeskkonda ja vähirakkude vastastikmõju, tänu nende võimele diferentseeruda mitmeks rakutüübiks, sealhulgas osteotsüütideks ja kondrotsüütideks. See on põhjendanud spekulatsioone nende sarnasuse kohta mesenhümaatiliste tüvirakkudega (MSC), arvestades nende fibroblastilaadset morfoloogiat ja normaalset diploidset karütüüpi säilitamist ulatusliku in vitro ekspansiooni käigus.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Applications Vaktsiini tootmine

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medical Research Council cell strain-5, Meditsiiniuuringute Nõukogu rakutüvi-5

Omadused

Age Loote

Gender Mees

Cell type Fibroblastide

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

MRC-5 rakud | 300395

Citation MRC-5 (Cytioni katalooginumber 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Biomolekulaarsed andmed

Virus susceptibility Ei ole vastuvõtlik SARS-koronaviiruse 2 (SARS-CoV-2) nakkusele (COVID-19)

Karyotype MRC5 on diploidne rakuliin, mille modaalne kromosoomiarv on 46.

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugege 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

MRC-5 rakud | 300395

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MRC-5 rakud | 300395

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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