

MRC-5-solut | 300395

Yleisiä tietoja

Description

MRC-5-soluja, ihmisen keuhkojen fibroblastisolulinjaa, joka on peräisin 14 viikon ikäisen miespuolisen sikiön keuhkokudoksesta vuonna 1966, käytetään laajalti tiettyjen rokotteiden, kuten hepatiitti A:n, polion ja raivotaudin rokotteiden, tuotannossa.

Alttius erilaisille ihmisviruksille, erityisesti ihmisen poliovirus 1:lle, herpes simplex -virukselle ja vesicular stomatitis -virukselle, korostaa MRC5-solujen merkitystä viruslääkkeiden, virusrokotteiden, rokoteturvallisuuden ja virusten monistumisen löytämisessä. MRC-5- ja WI-38-solulinjoja käytetään yhä nykyäänkin rokotteiden tuottamiseen varicellaa, vihurirokkoa, hepatiitti A:ta ja erästä raivotautirokotteen versiota varten. Äskettäin MRC-5-solut muunnettiin ilmentämään ACE2-reseptoria, ja ne ovat olleet avainasemassa SARS-tutkimuksessa. Muokattujen MRC5-ihmisen ACE2-solujen avulla tutkijat voivat tutkia, miten SARS-CoV-virus pääsee isäntäsoluihin ja lisääntyy niissä. Tämä työ on ollut elintärkeää viruksen käyttäytymisen ymmärtämiseksi ja kohdennettujen viruslääkkeiden ja hoitojen kehittämiseksi.

MRC5-sikiösolulinjan hyöty ulottuu rokotetuotannon lisäksi myös mahdollisiin tehtäviin syöpätutkimuksessa, sillä solulinjaa käytetään tutkimuksissa, joissa tutkitaan kasvaimen mikroympäristöä ja syöpäsolujen vuorovaikutusta, koska solulinja kykenee erilaistumaan useiksi solutyypeiksi, kuten osteosyyteiksi ja kondrosyyteiksi. Tämä on johtanut spekulatioihin niiden samankaltaisuudesta mesenkymaalisten kantasolujen (MSC) kanssa, kun otetaan huomioon niiden fibroblastien kaltainen morfologia ja normaalin diploidisen karyotyypin säilyminen laajassa in vitro -laajentumisessa.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Applications Rokotteen tuotanto

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medical Research Council -solukanta-5

Ominaisuudet

Age Sikiö

Gender Mies

Cell type Fibroblastit

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

MRC-5-solut | 300395

Citation	MRC-5 (Cytionin luettelonumero 300395)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0440
-----------------------------	-----------

Biomolekyytitiedot

Virus susceptibility	Ei altis SARS-koronaviruksen 2 (SARS-CoV-2) infektiolle (COVID-19)
-----------------------------	--

Karyotype	MRC5 on diploidi solulinja, jonka modaalinen kromosomiluku on 46.
------------------	---

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

MRC-5-solut | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

MRC-5-solut | 300395

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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