

MRC-5 ląstelės | 300395

Bendra informacija

Description

MRC-5 ląstelės - žmogaus plaučių fibroblastų ląstelių linija, gauta 1966 m. iš 14 savaičių vyriškos lyties vaisiaus plaučių audinio - plačiai naudojamos gaminant tam tikras vakcinas, įskaitant vakcinas nuo hepatito A, poliomielito, pasiutligės ir kt.

Imlumas įvairiems žmogaus virusams, ypač žmogaus poliovirusui 1, herpes simplex virusui ir vezikulinio stomatito virusui, pabrėžia MRC5 ląstelių vaidmenį atrandant antivirusines medžiagas, virusines vakcinas, vakcinų saugumą ir virusų replikaciją. MRC-5 ir WI-38 ląstelių linijos iki šiol naudojamos gaminant vakcinas nuo vėjaraupių, raudonukės, hepatito A ir pasiutligės vakcinose versijai. Neseniai MRC-5 ląstelės buvo modifikuotos taip, kad ekspresuotų ACE2 receptorių, ir buvo svarbios SARS tyrimams. Modifikuotos MRC5 žmogaus ace2 ląstelės leidžia mokslininkams tirti, kaip SARS-CoV virusas patenka į šeimininko ląsteles ir jose dauginasi. Šis darbas labai svarbus siekiant suprasti viruso elgseną ir kurti tikslingus antivirusinius preparatus bei gydymo būdus.

MRC5 embrioninių ląstelių linijos naudingumas neapsiriboja vien vakcinų gamyba, bet gali būti naudojamas ir vėžio tyrimuose: dėl gebėjimo diferencijuotis į įvairius ląstelių tipus, įskaitant osteocitus ir chondrocitus, ši ląstelių linija naudojama tyrimuose, kuriuose tiriama naviko mikroaplinka ir vėžio ląstelių sąveika. Tai paskatino spėlioti apie jų panašumą į mezenchimines kamienines ląsteles (MSC), atsižvelgiant į jų į fibroblastus panašią morfologiją ir normalaus diploidinio kariotipo išlaikymą per ilgą in vitro plėtimąsi.

Organism Žmogus

Tissue Plaučiai

Applications Vakcinų gamyba

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medicinos tyrimų tarybos ląstelių padermė-5

Charakteristikos

Age Vaisius

Gender Vyras

Cell type Fibroblastai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation MRC-5 (Cytion katalogo numeris 300395)

MRC-5 ląstelės | 300395

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0440

Biomolekuliniai duomenys

Virus susceptibility Nejautrūs SARS 2 koronaviruso (SARS-CoV-2) infekcijai (COVID-19)

Karyotype MRC5 yra diploidinė ląstelių linija, kurios modalinis chromosomų skaičius yra 46.

Tvarkymas

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

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MRC-5 ląstelės | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MRC-5 ląstelės | 300395

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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