

MRC-9 ląstelės | 300394

Bendra informacija

Description

MRC-9 ląstelių linija - tai žmogaus diploidinių fibroblastų padermė, gauta iš 15 nėštumo savaičių baltojo moteriškos lyties vaisiaus plaučių. Ji buvo sukurta ilgalaikiam naudojimui biologiniams tyrimams, vakcinų gamybai ir diagnostinei virusologijai. Ląstelės pasižymi adherentinio augimo savybėmis ir serijinio dauginimo metu išlaiko stabilų diploidinį kariotipą. Svarbu tai, kad MRC-9 ląstelės pasižymi normaliomis chromosominėmis savybėmis ir įprastomis sąlygomis nėra vėžinės. Tačiau jos pasižymėjo navikinėmis savybėmis, kai buvo tiriamos pusiau kietoje terpėje, bet ne implantuotos į imunosupresines peles.

MRC-9 ląstelės buvo plačiai naudojamos virusų jautrumo tyrimams, pasižyminčios dideliu jautrumu įvairiems virusams, pavyzdžiui, poliovirusui, adenovirusui, raudonukės ir citomegalovirusui. Šios ląstelės ypač vertingos dėl jų naudojimo virusologiniams tyrimams ir vakcinų kūrimui. Nors jų dauginimosi greitis yra lėtesnis, palyginti su kitomis žmogaus fibroblastų atmainomis, pavyzdžiui, MRC-5, MRC-9 ląstelės vis tiek gali daug kartų padvigubėti - yra duomenų, kad jos padvigubėjo net 46 kartus.

Organism Žmogus

Tissue Vaisiaus plaučiai

Synonyms MRC9, Medicinos tyrimų tarybos ląstelių padermė-9

Charakteristikos

Age Vaisius

Gender Moteris

Cell type Fibroblastai

Growth properties Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation MRC-9 (Cytion katalogo numeris 300394)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2629

MRC-9 ląstelės | 300394

Biomolekuliniai duomenys

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-9 ląstelės | 300394

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°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°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 perkelti 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°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

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 perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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 perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MRC-9 ląstelės | 300394

**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 skystąjį 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.