

MRC-5 šūnas | 300395

Vispārīga informācija

Description

MRC-5 šūnas - cilvēka plaušu fibroblastu šūnu līnija, kas iegūta 1966. gadā no 14 nedēļu veca vīriešu dzimuma augļa plaušu audiem - tiek plaši izmantotas dažu vakcīnu, tostarp A hepatīta, poliomiēlīta, trakumsērgas u. c., ražošanā.

MRC5 šūnu uzņēmība pret dažādiem cilvēka vīrusiem, jo īpaši pret cilvēka poliovīrusu 1, herpes simplex vīrusu un vezikulārā stomatīta vīrusu, uzsvēr MRC5 šūnu nozīmi pretvīrusu zāļu, vīrusu vakcīnu, vakcīnu drošības un vīrusu replikācijas atklāšanā. MRC-5 un WI-38 šūnu līnijas joprojām tiek izmantotas vakcīnu izgatavošanā pret masaliņām, masaliņām, A hepatītu un trakumsērgas vakcīnas versijai. Nesen MRC-5 šūnas tika modificētas, lai ekspresētu ACE2 receptoru, un tās ir bijušas nozīmīgas SARS pētījumos. Modificētās MRC5 cilvēka ace2 šūnas ļauj zinātniekiem pētīt, kā SARS-CoV vīrusus iekļūst un replicējas saimnieka šūnās. Šis darbs ir bijis ļoti svarīgs, lai izprastu vīrusa uzvedību un izstrādātu mērķtiecīgus pretvīrusu līdzekļus un ārstēšanu.

MRC5 embrionālo šūnu līnijas lietderība ir plašāka nekā vakcīnu ražošana, un tās potenciālā nozīme ir arī vēža pētniecībā, jo šūnu līnija tiek izmantota pētījumos, kuros tiek pētīta audzēja mikrovide un vēža šūnu mijiedarbība, pateicoties tās spējai diferencēties dažādos šūnu tipos, tostarp osteocītos un hondrocītos. Tas izraisīja pieņēmumus par to līdzību ar mezenhimālajām cilmes šūnām (MSC), ņemot vērā to fibroblastiem līdzīgo morfoloģiju un normāla diploīda kariotipa saglabāšanu plašas in vitro paplašināšanas laikā.

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

Applications Vakcīnu ražošana

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medicīnas pētniecības padomes šūnu celms-5

Raksturojums

Age Auglis

Gender Vīrieši

Cell type Fibroblasti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation MRC-5 (Cytion kataloga numurs 300395)

MRC-5 šūnas | 300395

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0440

Biomolekulārie dati

Virus susceptibility Nav uzņēmīgi pret SARS 2 koronavīrusa (SARS-CoV-2) infekciju (COVID-19)

Karyotype MRC5 ir diploīda šūnu līnija ar modālo hromosomu skaitu 46.

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

MRC-5 šūnas | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MRC-5 šūnas | 300395

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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