

MRC-5-cellen | 300395

Algemene informatie

Description

MRC-5 cellen, een menselijke longfibroblast cellijn afkomstig van het longweefsel van een 14 weken oude mannelijke foetus in 1966, worden op grote schaal gebruikt bij de productie van bepaalde vaccins, waaronder die voor hepatitis A, polio, hondsdolheid en meer.

De gevoeligheid voor verschillende menselijke virussen, met name humaan poliovirus 1, herpes simplex virus en vesiculair stomatitis virus, onderstreept de rol van MRC5-cellen bij de ontdekking van antivirale middelen, virale vaccins, vaccinveiligheid en virusreplicatie. MRC-5- en WI-38-cellijnen worden vandaag de dag nog steeds gebruikt voor de productie van vaccins tegen varicella, rubella, hepatitis A en een versie van het rabiësvaccin. Onlangs werden MRC-5 cellen gemodificeerd om de ACE2 receptor tot expressie te brengen, en deze cellen hebben een sleutelrol gespeeld in het SARS onderzoek. De gemodificeerde MRC5 menselijke ace2-cellen stellen wetenschappers in staat om te bestuderen hoe het SARS-CoV-virus gastheercellen binnendringt en zich vermeerdert. Dit werk is van vitaal belang geweest voor het begrijpen van het gedrag van het virus en het ontwikkelen van gerichte antivirale middelen en behandelingen.

Het nut van de MRC5 foetale cellijn reikt verder dan de productie van vaccins en omvat ook potentiële rollen in kankeronderzoek, waarbij de cellijn wordt gebruikt in onderzoeken naar de tumormicro-omgeving en interacties tussen kankercellen, vanwege hun vermogen om te differentiëren in meerdere celtypen, waaronder osteocyten en chondrocyten. Dit heeft geleid tot speculaties over hun gelijkenis met mesenchymale stamcellen (MSCs), gezien hun fibroblast-achtige morfologie en behoud van een normaal diploïd karyotype na uitgebreide in vitro expansie.

Organism Mens

Tissue Long

Applications Productie van vaccins

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

Kenmerken

Age Foetus

Gender Mannelijk

Cell type Fibroblast

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

MRC-5-cellen | 300395

Citation MRC-5 (Cytion catalogusnummer 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Biomoleculaire gegevens

Virus susceptibility Niet gevoelig voor infectie met het SARS-coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)

Karyotype MRC5 is een diploïde cellijn met een modaal chromosoomnummer van 46.

Omgaan met

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

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

MRC-5-cellen | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

MRC-5-cellen | 300395

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 11,14
D16S539: 9,11
D5S818: 11,12
D7S820: 10,11
TH01: 8
TPOX: 8
vWA: 15
D3S1358: 15,17
D21S11: 31,2
D18S51: 15,21
Penta E: 12,16
Penta D: 12
D8S1179: 13
FGA: 21,23
D6S1043: 11,19
D2S1338: 20
D12S391: 20,22
D19S433: 14,15

HLA-allelen

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