Product sheet

MRC-5-celler | 300395

Generell informasjon

Description	MRC-5-celler, en human lungefibroblastcellelinje som ble avledet fra lungevevet til et 14 uker gammelt mannlig foster i 1966, brukes i stor utstrekning i produksjonen av visse vaksiner, inkludert vaksiner mot hepatitt A, polio, rabies med mer. MRC5-cellenes mottakelighet for ulike humane virus, særlig humant poliovirus 1, herpes simplex-virus og vesikulært stomatittvirus, understreker MRC5-cellenes rolle i oppdagelsen av antivirale midler, virusvaksiner, vaksinesikkerhet og virusreplikasjon. MRC-5- og WI-38-cellelinjer brukes fortsatt i dag til å produsere vaksiner mot varicella, røde hunder, hepatitt A og en versjon av rabiesvaksine. Nylig ble MRC-5-celler modifisert til å uttrykke ACE2-reseptoren, og de har spilt en nøkkelrolle i forskningen på SARS. De modifiserte MRC5 humane ace2-cellene gjør det mulig for forskere å studere hvordan SARS-CoV-viruset kommer inn i og replikerer seg i vertsceller. Dette arbeidet har vært avgjørende for å forstå virusets atferd og utvikle målrettede antivirale midler og behandlinger. MRC5-cellelinjens nytteverdi strekker seg lenger enn til vaksineproduksjon, og omfatter også potensielle roller innen kreftforskning, der cellelinjen brukes i studier som utforsker tumormikromiljøet og interaksjoner mellom kreftceller, på grunn av cellelinjens evne til å differensiere til flere celletyper, inkludert osteocytter og kondrocytter. Dette har ført til spekulasjoner om likheten med mesenkymale stamceller (MSC), på grunn av den fibroblastlignende morfologien og opprettholdelsen av en normal diploid karyotype gjennom omfattende in vitro-ekspansjon.
Organism	Menneskelig
Tissue	Lunge
Applications	Vaksineproduksjon
Synonyms	MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medical Research Council cell strain-5

Kjennetegn

Age	Foster
Gender	Mann
Cell type	Fibroblast
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

MRC-5-celler | 300395

Citation	MRC-5 (Cytion katalognummer 300395)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0440

Biomolekylære data

Virus susceptibility	Ikke mottakelig for SARS-virus 2 (SARS-CoV-2)-infeksjon (COVID-19)
Karyotype	MRC5 er en diploid cellelinje med et modalt kromosomtall på 46.

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO3, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**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-alleler	**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