

Komórki MRC-5 | 300395**Informacje ogólne****Description**

Komórki MRC-5, ludzka linia komórek fibroblastów płuc pochodzących z tkanki płucnej 14-tygodniowego płodu płci męskiej w 1966 roku, są szeroko wykorzystywane w produkcji niektórych szczepionek, w tym przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu A, polio, wściekliznie i innych.

Podatność na różne ludzkie wirusy, w szczególności ludzkiego wirusa polio 1, wirusa opryszczki pospolitej i wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej, podkreśla rolę komórek MRC5 w odkrywaniu leków przeciwwirusowych, szczepionek wirusowych, bezpieczeństwa szczepionek i replikacji wirusów. Linie komórkowe MRC-5 i WI-38 są nadal wykorzystywane do produkcji szczepionek przeciwko ospie wietrznej, różyczce, wirusowemu zapaleniu wątroby typu A i wersji szczepionki przeciwko wściekliznie. Niedawno komórki MRC-5 zostały zmodyfikowane w celu ekspresji receptora ACE2 i odegrały kluczową rolę w badaniach nad SARS. Zmodyfikowane ludzkie komórki ace2 MRC5 pozwalają naukowcom badać, w jaki sposób wirus SARS-CoV wnika i replikuje się w komórkach gospodarza. Praca ta ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia zachowania wirusa i opracowania ukierunkowanych środków przeciwwirusowych i terapii.

Użyteczność płodowej linii komórkowej MRC5 wykracza poza produkcję szczepionek i obejmuje potencjalną rolę w badaniach nad rakiem, a linia komórkowa jest wykorzystywana w badaniach nad mikrośrodowiskiem guza i interakcjami komórek nowotworowych, ze względu na ich zdolność do różnicowania się w wiele typów komórek, w tym osteocytów i chondrocytów. Doprowadziło to do spekulacji na temat ich podobieństwa do mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC), biorąc pod uwagę ich morfologię podobną do fibroblastów i utrzymanie normalnego kariotypu diploidalnego podczas rozległej ekspansji in vitro.

Organism Człowiek

Tissue Płuco

Applications Produkcja szczepionek

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, szczep komórkowy Medical Research Council-5

Charakterystyka

Age Płód

Gender Mężczyzna

Cell type Fibroblast

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Komórki MRC-5 | 300395**Citation** MRC-5 (numer katalogowy Cytion 300395)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0440**Dane biomolekularne****Virus susceptibility** Brak podatności na zakażenie koronawirusem SARS 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)**Karyotype** MRC5 jest diploidalną linią komórkową o modalnej liczbie chromosomów 46.**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MRC-5 | 300395**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Komórki MRC-5 | 300395

Allele HLA

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