

Células MRC-5 | 300395

Informações gerais

Description

As células MRC-5, uma linha celular de fibroblastos pulmonares humanos derivada do tecido pulmonar de um feto masculino com 14 semanas de idade em 1966, são amplamente utilizadas na produção de determinadas vacinas, incluindo as da hepatite A, poliomielite, raiva, entre outras.

A suscetibilidade a vários vírus humanos, nomeadamente o poliovírus humano 1, o vírus do herpes simplex e o vírus da estomatite vesicular, sublinha o papel das células MRC5 na descoberta de antiviricos, vacinas virais, segurança das vacinas e replicação de vírus. As linhas celulares MRC-5 e WI-38 são ainda hoje utilizadas na produção de vacinas contra a varicela, a rubéola, a hepatite A e uma versão da vacina contra a raiva. Recentemente, as células MRC-5 foram modificadas para expressar o recetor ACE2 e têm sido fundamentais na investigação da SRA. As células humanas MRC5 ace2 modificadas permitem aos cientistas estudar a forma como o vírus SARS-CoV entra e se replica nas células hospedeiras. Este trabalho tem sido vital para compreender o comportamento do vírus e desenvolver agentes e tratamentos antivirais direcionados.

A utilidade da linha celular fetal MRC5 vai além da produção de vacinas e inclui potenciais papéis na investigação do cancro, sendo a linha celular utilizada em estudos que exploram o microambiente tumoral e as interações entre as células cancerígenas, devido à sua capacidade de se diferenciar em múltiplos tipos de células, incluindo osteócitos e condrócitos. Este facto levou à especulação sobre a sua semelhança com as células estaminais mesenquimais (MSC), dada a sua morfologia semelhante à dos fibroblastos e a manutenção de um cariótipo diploide normal após uma extensa expansão in vitro.

Organism Humano

Tissue Pulmão

Applications Produção de vacinas

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, Medical Research Council cell strain-5

Caraterísticas

Age Feto

Gender Masculino

Cell type Fibroblastos

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Células MRC-5 | 300395

Citation MRC-5 (número de catálogo Cytion 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Dados biomoleculares

Virus susceptibility Não suscetível à infecção pelo coronavírus SARS 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)

Karyotype A MRC5 é uma linha celular diploide com um número cromossômico modal de 46.

Manuseamento

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células MRC-5 | 300395

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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