

Celule MRC-5 | 300395

Informații generale

Description

Celulele MRC-5, o linie celulară de fibroblaste pulmonare umane derivată din țesutul pulmonar al unui făt de sex masculin în vârstă de 14 săptămâni în 1966, sunt utilizate pe scară largă în producția anumitor vaccinuri, inclusiv cele pentru hepatita A, poliomielită, rabie și altele.

Sensibilitatea la diverse virusuri umane, în special la poliovirusul uman 1, virusul herpes simplex și virusul stomatitei veziculoase subliniază rolul celulelor MRC5 în descoperirea de antivirale, vaccinuri virale, siguranța vaccinurilor și replicarea virusurilor. Liniile celulare MRC-5 și WI-38 sunt utilizate și în prezent pentru producerea vaccinurilor împotriva varicelei, rubeolei, hepatitei A și a unei versiuni a vaccinului antirabic. Recent, celulele MRC-5 au fost modificate pentru a exprima receptorul ACE2 și au fost esențiale în cercetarea SARS. Celulele MRC5 umane ace2 modificate permit oamenilor de știință să studieze modul în care virusul SARS-CoV intră și se replică în celulele gazdă. Această activitate a fost esențială pentru înțelegerea comportamentului virusului și pentru dezvoltarea de agenți antivirali și tratamente specifice.

Utilitatea liniei celulare fetale MRC5 se extinde dincolo de producția de vaccinuri și include roluri potențiale în cercetarea cancerului, linia celulară fiind utilizată în studii care explorează micro-mediul tumoral și interacțiunile dintre celulele canceroase, datorită capacității lor de a se diferenția în mai multe tipuri de celule, inclusiv osteocite și condrocite. Acest lucru a condus la speculații cu privire la similitudinea lor cu celulele stem mezenchimale (MSC), având în vedere morfologia lor asemănătoare fibroblastelor și menținerea unui cariotip diploid normal în cursul unei expansiuni in vitro extinse.

Organism Om

Tissue Plămân

Applications Producția de vaccinuri

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

Caracteristici

Age Fetusul

Gender Masculin

Cell type Fibroblast

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Celule MRC-5 | 300395

Citation MRC-5 (număr de catalog Cytion 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Date biomoleculare

Virus susceptibility Nu sunt susceptibile la infecția cu coronavirusul SARS 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)

Karyotype MRC5 este o linie celulară diploidă cu un număr modal de cromozomi de 46.

Manipulare

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

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule MRC-5 | 300395

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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