

MRC-5-celler | 300395

Allmän information

Description

MRC-5-celler, en human lungfibroblastcellinje som 1966 härrörde från lungvävnaden hos ett 14 veckor gammalt manligt foster, används i stor utsträckning vid framställning av vissa vacciner, bland annat mot hepatit A, polio och rabies.

Känsligheten för olika mänskliga virus, särskilt humant poliovirus 1, herpes simplex-virus och vesikulärt stomatitvirus, understryker MRC5-cellernas roll i upptäckten av antivirala medel, virusvacciner, vaccinsäkerhet och virusreplikation. MRC-5- och WI-38-cellinjer används än idag för att producera vacciner mot varicella, röda hund, hepatit A och en version av rabiesvaccin. Nyligen modifierades MRC-5-cellerna så att de uttrycker ACE2-receptorn, och de har spelat en nyckelroll i SARS-forskningen. De modifierade MRC5 human ace2-cellerna gör det möjligt för forskare att studera hur SARS-CoV-viruset tar sig in i och replikeras i värdceller. Detta arbete har varit avgörande för att förstå virusets beteende och för att utveckla riktade antivirala medel och behandlingar.

MRC5-cellinjens användbarhet sträcker sig bortom vaccinproduktion och inkluderar potentiella roller inom cancerforskning, där cellinjen används i studier som utforskar tumörens mikromiljö och interaktioner mellan cancerceller, på grund av deras förmåga att differentiera till flera olika celltyper, inklusive osteocyter och kondrocyter. Detta har lett till spekulationer om deras likhet med mesenkymala stamceller (MSC), med tanke på deras fibroblastliknande morfologi och bibehållande av en normal diploid karyotyp under omfattande in vitro-expansion.

Organism Människan

Tissue Lungan

Applications Vaccinproduktion

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

Egenskaper

Age Foster

Gender Man

Cell type Fibroblast

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation MRC-5 (Cytion katalognummer 300395)

MRC-5-celler | 300395**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0440**Biomolekylära data****Virus susceptibility** Inte mottaglig för infektion med SARS coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)**Karyotype** MRC5 är en diploid cellinje med ett modalt kromosomnummer på 46.**Hantering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

MRC-5-celler | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

MRC-5-celler | 300395

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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