

**Bunky MRC-5 | 300395****Všeobecné informácie****Description**

Bunky MRC-5, ľudská pľúcna fibroblastová bunková línia získaná z pľúcneho tkaniva 14-týždňového mužského plodu v roku 1966, sa vo veľkej miere používajú pri výrobe niektorých vakcín vrátane vakcín proti hepatitíde A, detskej obrne, besnote a ďalších.

Citlivosť na rôzne ľudské vírusy, najmä na ľudský poliovírus 1, vírus herpes simplex a vírus vezikulárnej stomatitídy, zdôrazňuje úlohu buniek MRC5 pri objavovaní antivirových, vírusových vakcín, bezpečnosti vakcín a replikácie vírusov. Bunkové línie MRC-5 a WI-38 sa dodnes používajú pri výrobe vakcín proti varicelle, rubeole, hepatitíde A a verzii vakcíny proti besnote. Nedávno boli bunky MRC-5 modifikované tak, aby exprimovali receptor ACE2, a boli kľúčové vo výskume SARS. Modifikované ľudské bunky MRC5 Ace2 umožňujú vedcom študovať, ako vírus SARS-CoV vstupuje do hostiteľských buniek a replikuje sa v nich. Táto práca je veľmi dôležitá pre pochopenie správania vírusu a vývoj cieľných antivírusových látok a liečby.

Využitelnosť fetálnej bunkovej línie MRC5 presahuje rámec výroby vakcín a zahŕňa aj potenciálne úlohy vo výskume rakoviny, pričom bunková línia sa využíva v štúdiách skúmajúcich nádorové mikroprostredie a interakcie rakovinových buniek vďaka ich schopnosti diferencovať sa na viaceré typy buniek vrátane osteocytov a chondrocytov. To viedlo k špekuláciám o ich podobnosti s mezenchýmovými kmeňovými bunkami (MSC) vzhľadom na ich morfológiu podobnú fibroblastom a zachovanie normálneho diploidného karyotypu počas rozsiahlej expanzie in vitro.

**Organism**      Ľudské**Tissue**              Pľúca**Applications**      Výroba vakcín**Synonyms**          MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, bunkový kmeň 5 Medical Research Council**Charakteristika****Age**                      Plod**Gender**                Muži**Cell type**              Fibroblasty**Growth properties**      Adherent**Regulačné údaje****Citation**                MRC-5 (katalógové číslo Cytion 300395)

**Bunky MRC-5 | 300395****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0440**Biomolekulárne údaje****Virus susceptibility** Necitlivý na infekciu koronavírusom SARS 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)**Karyotype** MRC5 je diploidná bunková línia s modálnym počtom chromozómov 46.**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky MRC-5 | 300395

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky MRC-5 | 300395

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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