

Клітини MRC-5 | 300395

Загальна інформація

Description

Клітини MRC-5, клітинні лінії легеневих фібробластів людини, отримані з легеневої тканини 14-тижневого плоду чоловічої статі в 1966 році, широко використовуються у виробництві деяких вакцин, у тому числі проти гепатиту А, поліомієліту, сказу тощо.

Чутливість до різних людських вірусів, зокрема до поліовірусу людини 1, вірусу простого герпесу та вірусу везикулярного стоматиту, підкреслює роль клітин MRC5 у відкритті противірусних препаратів, вірусних вакцин, безпечності вакцин та реплікації вірусів. Клітинні лінії MRC-5 та WI-38 і сьогодні використовуються у виробництві вакцин проти вітряної віспи, краснухи, гепатиту А та однієї з версій вакцини проти сказу. Нещодавно клітини MRC-5 були модифіковані для експресії рецептора АПФ2 і стали ключовими в дослідженні атипової пневмонії. Модифіковані клітини MRC5 людини асе2 дозволяють вченим вивчати, як вірус SARS-CoV проникає і реплікується в клітинах хазяїна. Ця робота є життєво важливою для розуміння поведінки вірусу та розробки цільових противірусних препаратів і методів лікування.

Корисність лінії фетальних клітин MRC5 виходить за рамки виробництва вакцин і включає потенційну роль у дослідженні раку, оскільки клітини цієї лінії використовуються в дослідженнях, що вивчають мікрооточення пухлини та взаємодію ракових клітин, завдяки їх здатності диференціюватися в різні типи клітин, включаючи остеоцити і хондроцити. Це призвело до припущення про їх схожість з мезенхімальними стовбуровими клітинами (МСК), враховуючи їх фібробластоподібну морфологію і збереження нормального диплоїдного каріотипу при екстенсивній експансії *in vitro*.

Organism Людина

Tissue Легені

Applications Виробництво вакцин

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, клітинний штам Ради медичних досліджень-5

Характеристики

Age Плід

Gender Чоловік

Cell type Фібробласт

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Клітини MRC-5 | 300395

Citation MRC-5 (номер за каталогом Cytion 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Біомолекулярні дані

Virus susceptibility Не сприйнятливі до інфекції, спричиненої коронавірусом атипової пневмонії 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)

Karyotype MRC5 - це диплоїдна клітинна лінія з модальним числом хромосом 46.

Обробка

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO₃, w: EBSS (цит. номер 820100a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини MRC-5 | 300395

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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