

Cellules MRC-5 | 300395

Informations générales

Description

Les cellules MRC-5, une lignée cellulaire de fibroblastes pulmonaires humains dérivée du tissu pulmonaire d'un fœtus mâle de 14 semaines en 1966, sont largement utilisées dans la production de certains vaccins, notamment ceux contre l'hépatite A, la polio, la rage, etc.

La sensibilité à divers virus humains, notamment le poliovirus humain 1, le virus de l'herpès simple et le virus de la stomatite vésiculaire, souligne le rôle des cellules MRC5 dans la découverte d'antiviraux, de vaccins viraux, de la sécurité des vaccins et de la réplication des virus. Les lignées cellulaires MRC-5 et WI-38 sont encore utilisées aujourd'hui pour produire des vaccins contre la varicelle, la rubéole, l'hépatite A et une version du vaccin contre la rage. Récemment, les cellules MRC-5 ont été modifiées pour exprimer le récepteur ACE2 et ont joué un rôle clé dans la recherche sur le SRAS. Les cellules MRC5 humaines ACE2 modifiées permettent aux scientifiques d'étudier la manière dont le virus SARS-CoV pénètre dans les cellules hôtes et s'y réplique. Ces travaux sont essentiels pour comprendre le comportement du virus et mettre au point des agents antiviraux et des traitements ciblés.

L'utilité de la lignée cellulaire fœtale MRC5 va au-delà de la production de vaccins et inclut des rôles potentiels dans la recherche sur le cancer, la lignée cellulaire étant utilisée dans des études explorant le microenvironnement tumoral et les interactions entre les cellules cancéreuses, en raison de leur capacité à se différencier en plusieurs types de cellules, y compris les ostéocytes et les chondrocytes. Cela a donné lieu à des spéculations sur leur similarité avec les cellules souches mésenchymateuses (CSM), étant donné leur morphologie semblable à celle des fibroblastes et le maintien d'un caryotype diploïde normal au cours d'une expansion in vitro extensive.

Organism Humain

Tissue Poumon

Applications Production de vaccins

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, souche cellulaire 5 du Medical Research Council

Caractéristiques

Age Fœtus

Gender Homme

Cell type Fibroblaste

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Cellules MRC-5 | 300395

Citation MRC-5 (numéro de catalogue Cytion 300395)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0440

Données biomoléculaires

Virus susceptibility Non sensible à l'infection par le coronavirus 2 du SRAS (SARS-CoV-2) (COVID-19)

Karyotype MRC5 est une lignée cellulaire diploïde avec un nombre modal de chromosomes de 46.

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)

Supplements Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules MRC-5 | 300395

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

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

Cellules MRC-5 | 300395

Allèles 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