

**Cellule MRC-5 | 300395****Informazioni generali****Description**

Le cellule MRC-5, una linea cellulare di fibroblasti polmonari umani derivati dal tessuto polmonare di un feto maschio di 14 settimane nel 1966, sono ampiamente utilizzate nella produzione di alcuni vaccini, tra cui quelli per l'epatite A, la poliomielite, la rabbia e altri ancora.

La suscettibilità a vari virus umani, in particolare il poliovirus umano 1, il virus dell'herpes simplex e il virus della stomatite vescicolare, sottolinea il ruolo delle cellule MRC5 nella scoperta di antivirali, vaccini virali, sicurezza dei vaccini e replicazione dei virus. Le linee cellulari MRC-5 e WI-38 sono ancora oggi utilizzate per produrre vaccini per la varicella, la rosolia, l'epatite A e una versione del vaccino contro la rabbia. Recentemente, le cellule MRC-5 sono state modificate per esprimere il recettore ACE2 e sono state fondamentali per la ricerca sulla SARS. Le cellule MRC5 umane ace2 modificate consentono agli scienziati di studiare come il virus SARS-CoV entra e si replica nelle cellule ospiti. Questo lavoro è stato fondamentale per comprendere il comportamento del virus e sviluppare agenti antivirali e trattamenti mirati.

L'utilità della linea cellulare fetale MRC5 va oltre la produzione di vaccini e include ruoli potenziali nella ricerca sul cancro: la linea cellulare è stata impiegata in studi che esplorano il microambiente tumorale e le interazioni tra cellule tumorali, grazie alla capacità di differenziarsi in più tipi di cellule, tra cui osteociti e condrociti. Ciò ha portato a speculazioni sulla loro somiglianza con le cellule staminali mesenchimali (MSC), data la loro morfologia simile a quella dei fibroblasti e il mantenimento di un normale cariotipo diploide nel corso di un'ampia espansione in vitro.

**Organism** Umano

**Tissue** Polmone

**Applications** Produzione di vaccini

**Synonyms** MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, ceppo di cellule del Medical Research Council 5

**Caratteristiche**

**Age** Feto

**Gender** Uomo

**Cell type** Fibroblasti

**Growth properties** Aderente

**Dati normativi**

**Cellule MRC-5 | 300395****Citation** MRC-5 (catalogo Cytion numero 300395)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0440**Dati biomolecolari****Virus susceptibility** Non suscettibile all'infezione da SARS coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)**Karyotype** MRC5 è una linea cellulare diploide con un numero di cromosomi modale pari a 46.**Manipolazione****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule MRC-5 | 300395

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule MRC-5 | 300395

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Profilo 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

Cellule MRC-5 | 300395

**Alleli 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