Product sheet

Cellules MRC-5 | 300395

Renseignements généraux

Description	Les cellules MRC-5, une lignée cellulaire de fibroblastes pulmonaires humains issue du tissu pulmonaire d'un fœtus masculin âgé de 14 semaines en 1966, sont largement utilisées dans la production de certains vaccins, notamment ceux contre l'hépatite A, la polio, la rage et bien d'autres encore. Leur sensibilité à divers virus humains, notamment le poliovirus humain de type 1, le virus de l'herpès simplex et le virus de la stomatite vésiculeuse, souligne le rôle des cellules MRC-5 dans la découverte d'antiviraux, de vaccins viraux, dans l'évaluation de l'innocuité des vaccins et dans l'étude de la réplication virale. Les lignées cellulaires MRC-5 et WI-38 sont encore utilisées aujourd'hui dans la production de 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 humaines MRC-5 modifiées pour exprimer l'ACE2 permettent aux scientifiques d'étudier comment le virus SARS-CoV pénètre dans les cellules hôtes et s'y réplique. Ces travaux ont été 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 s'étend au-delà de la production de vaccins pour inclure des rôles potentiels dans la recherche sur le cancer; cette lignée cellulaire est en effet utilisée dans des études explorant le microenvironnement tumoral et les interactions entre cellules cancéreuses, grâce à sa capacité à se différencier en plusieurs types cellulaires, notamment en ostéocytes et en chondrocytes. Cela a donné lieu à des hypothèses quant à leur similitude avec les cellules souches mésenchymateuses (CSM), compte tenu de leur morphologie de type fibroblaste et du maintien d'un caryotype diploïde normal au cours d'une expansion in vitro prolongée.
Organism	Humain
Tissue	Poumon
Applications	Production de vaccins
Synonyms	MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, souche cellulaire n° 5 du Medical Research Council

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Homme
Cell type	Fibroblaste
Growth properties	Adepte

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 susceptible d'être infecté par le coronavirus 2 du SRAS (SARS-CoV-2) (COVID-19)
Karyotype	MRC5 est une lignée cellulaire diploïde dont le nombre modal de chromosomes est de 46.

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820100a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.