

MH7A-rakud | 305036

Üldine teave

Description

MH7A on inimese sünoviaalse fibroblasti rakuliin, mis on muudetud surematuks stabiilse SV40 suure T-antigeeni ekspressiooni abil ning mis on loodud ühe jaapani naispatsiendi sünoviaalse koe põhjal. MH7A kasvab adhesiivse kultuurina, millel on fibroblastilaadne morfoloogia, ning säilitab reumatoidartriidi sünoviaalfibroblastide (RASf) peamised funktsionaalsed omadused, sealhulgas reageerimisvõime proinflammatoorsetele tsütokiinidele (IL-1 β , TNF- α), matriksi metalloproteiinaaside (MMP-de) ekspressiooni ning võime tungida kõhremaatriksisse. See on üks laialdasemalt kasutatavaid in vitro mudeleid sünoviotsüütide bioloogia ja reumatoidartriidi patogeneesi uurimiseks.

MH7A-d saab kasutada reumatoidartriidi uurimisel, sünoviotsüütide aktiveerimisel, MMP-de ja TIMP-ide regulatsioonis, tsütokiinide signaalimisel (NF- κ B, JAK-STAT, MAPK), reumavastaste ravimite hindamisel (DMARD-id, bioloogilised ravimid, JAK-inhibiitorid) ning liigeste hävimise ko-kultuurimudelites. See rakuliin pakub järjepidevat ja korratavat reumatoidartriidi sünoviotsüütide mudelit, mis vältib patsientidelt saadud esmaste RASf-ide varieeruvust ja piiratud kättesaadavust.

Organism

Inimene

Tissue

Liigesekelme

Disease

Sünoviaalne fibroblast (SV40-ga surematuks muudetud; reumatoidartriidi sünoviotsüüdi mudel)

Metastatic site

Ei kohaldata (mittetumorigeenne sünoviaalne fibroblastide mudel)

Applications

Reumatoidartriidi uurimine; sünoviotsüütide aktiveerimine; MMP/TIMP regulatsioon; NF- κ B/JAK-STAT/MAPK signaaliedastus; reumavastaste ravimite hindamine; liigeste hävimist modelleerivad ko-kultuurimudelid; tsütokiinide signaaliedastus

Omadused

Age

Täpsustamata vanus

Gender

Naised

Ethnicity

Jaapani

Morphology

fibroblastilaadne

Cell type

Fibroblastilaadne sünoviotsüüt

Growth properties

Kinnipeetav

MH7A-rakud | 305036

Regulatiivsed andmed

Citation	MH7A (Cytioni katalooginumber 305036)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0427
GMO Status	GMO-S1: MH7A muudeti surematuks SV40 suure T-antigeeni stabiilse integreerimise teel. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase, 5 min, 37 °C
Doubling time	umbes 24–36 tundi
Subculturing	Eemaldage kasvukeskkond, peske kaltsiumi- ja magneesiumivaba PBS-ga, katke 0,25% trüpsiiniga, inkubeerige 37 °C juures 3–5 minutit, suspendeerige uuesti kasvukeskkonnas, tsentrifuugige 300×g juures 3 minutit, valage supernatant ära, külvake uuesti.
Split ratio	1 : 8 jagunemine
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 2 kuni 5×10^4 rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

MH7A-rakud | 305036

**Freeze
medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196°C juures. Säilitamine temperatuuril -80°C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

MH7A-rakud | 305036

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs