

MH7A-solut | 305036

Yleisiä tietoja

Description

MH7A on ihmisen nivelkalvon fibroblastisolulinja, joka on ikuistettu stabiiliin SV40-viruksen suuren T-antigeenin ilmentymisen avulla ja joka on peräisin japanilaisen naispotilaan nivelkalvokudoksesta. MH7A kasvaa adheesiivisena viljelmänä, jolla on fibroblastien kaltainen morfologia, ja säilyttää nivelreuman synoviaalisten fibroblastien (RASf) keskeiset toiminnalliset ominaisuudet, mukaan lukien herkkyden proinflammatorisille sytokiineille (IL-1 β , TNF- α), matriisimetalloproteiinaasien (MMP:t) ilmentyminen sekä kyky tunkeutua rustomatriisiin. Se on yksi laajimmin käytetyistä in vitro -malleista nivelkalvosolujen biologian ja nivelreuman patogeneesin tutkimuksessa.

MH7A-linjaa voidaan soveltaa nivelreuman tutkimuksessa, synoviosyyttien aktivaatiossa, MMP- ja TIMP-säätelyssä, sytokiinisignaaloinnissa (NF- κ B, JAK-STAT, MAPK), reumalääkkeiden arvioinnissa (DMARD-lääkkeet, biologiset lääkkeet, JAK-estäjät) sekä nivelten tuhoutumista koskevissa yhteisviljelymalleissa. Kanta tarjoaa yhdenmukaisen, toistettavan nivelreuman synoviosyyttimallin, joka kiertää potilaista peräisin olevien primaaristen RASf-solujen vaihtelevuuden ja rajoitetun saatavuuden.

Organism

Ihminen

Tissue

Niveltulehduskalvo

Disease

Nivelsynoviaalinen fibroblasti (SV40:llä ikuistettu; mallintaa nivelreuman synoviosyyttejä)

Metastatic site

Ei sovelleta (ei-kasvainta aiheuttava nivelkalvon fibroblastimalli)

Applications

Nivelreuman tutkimus; synoviosyyttien aktivaatio; MMP/TIMP-säätely; NF- κ B/JAK-STAT/MAPK-signaali; reumalääkkeiden arviointi; nivelten tuhoutumista kuvaavat yhteisviljelymallit; sytokiinisignointi

Ominaisuudet

Age

Ikä määrittelemätön

Gender

Nainen

Ethnicity

Japanilainen

Morphology

fibroblastien kaltaiset

Cell type

Fibroblastien kaltaiset synoviosyytit

Growth properties

Tarttuva

MH7A-solut | 305036

Säätelytiedot

Citation	MH7A (Cytionin tuotenumero 305036)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0427
GMO Status	GMO-S1: MH7A-kanta on immortalisoitu integroimalla siihen stabiilisti SV40-viruksen suuri T-antigeeni. Tämä luokitus on voimassa vain Saksassa, ja se voi poiketa muissa maissa.

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase, 5 min., 37 °C
Doubling time	noin 24–36 tuntia
Subculturing	Poista kasvualusta, pese PBS-liuoksella, josta on poistettu kalsium ja magnesium, peitä 0,25-prosenttisella trypsiiniliuoksella, inkuboi 37 °C:ssa 3–5 minuuttia, suspendoi uudelleen kasvualustaan, sentrifugoi 300×g:ssa 3 minuuttia, heitä supernatantti pois ja istuta solut uudelleen.
Split ratio	1 : 8-jako
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut $2-5 \times 10^4$ solua/cm ² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

MH7A-solut | 305036

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

MH7A-solut | 305036

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi