

MH7A sejtek | 305036

Általános információk

Description

Az MH7A egy olyan humán szinoviális fibroblaszt sejtvonal, amelyet a stabil SV40 nagy T-antigén expresszióval tették halhatatlanná, és amelyet egy japán női beteg szinoviális szövetéből állítottak elő. Az MH7A adhezív tenyészetként növekszik, fibroblaszt-szerű morfológiával rendelkezik, és megőrzi a reumás ízületi gyulladás szinoviális fibroblasztjainak (RASf-ek) legfontosabb funkcionális jellemzőit, beleértve a proinflammatorikus citokinek (IL-1 β , TNF- α), a mátrix-metalloproteinázok (MMP-k) expresszióját, valamint a porc mátrixába való behatolási képességet. Ez az egyik legszélesebb körben használt in vitro modell a szinoviociták biológiájának és a reumás ízületi gyulladás patogenezisének tanulmányozására.

Az MH7A alkalmazható a reumás ízületi gyulladás kutatásában, a szinoviocita-aktiváció, az MMP-k és a TIMP-ek szabályozásának, a citokin-jelátvitel (NF- κ B, JAK-STAT, MAPK) vizsgálatában, a reumás gyógyszerek (DMARD-ok, biológiai szerek, JAK-gátlók) értékelésében, valamint az ízületi pusztulás ko-kultúra modelljeiben. A sejtvonal konzisztens, reprodukálható RA-szinoviocita-modellt biztosít, amely kiküszöböli a betegektől származó elsődleges RASf-ek változékonyságát és korlátozott rendelkezésre állását.

Organism

Emberi

Tissue

Ízületi nyálkahártya

Disease

Szinoviális fibroblaszt (SV40-val halhatatlanná tett; a reumás ízületi gyulladás szinoviocitáit modellezi)

Metastatic site

Nem alkalmazható (nem tumorigenikus szinoviális fibroblaszt-modell)

Applications

Reumás ízületi gyulladás kutatása; szinoviociták aktiválása; MMP/TIMP szabályozás; NF- κ B/JAK-STAT/MAPK jelátvitel; reumás gyógyszerek értékelése; ízületi károsodást modellező ko-kultúra-modellek; citokin-jelátvitel

Jellemzők

Age

Meghatározatlan életkor

Gender

Női

Ethnicity

Japán

Morphology

fibroblaszt-szerű

Cell type

Fibroblaszt-szerű szinoviocita

Growth properties

Adherent

MH7A sejtek | 305036

Szabályozási adatok

Citation	MH7A (Cytion katalógusszám: 305036)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0427
GMO Status	GMO-S1: Az MH7A-t az SV40 nagy T-antigén stabil integrációjával tették halhatatlanná. Ez a besorolás kizárólag Németországon belül érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase, 5 perc, 37 °C
Doubling time	kb. 24–36 óra
Subculturing	Távolítsuk el a tápközeget, mossuk le kalcium- és magnéziummentes PBS-sel, öntsünk rá 0,25%-os tripszint, inkubáljuk 37 °C-on 3–5 percig, szuszpendáljuk újra a tápközegben, centrifugáljuk 300×g-vel 3 percig, öntsük ki a felülúszót, majd ültessük át újra.
Split ratio	1 : 8 arányú felosztás
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket $2-5 \times 10^4$ sejt/cm ² sűrűséggel a lemezre, és hagyja, hogy a sejtek legalább 24 órán át regenerálódjanak a fagyasztási folyamat után, és tapadjanak a lemezhez.

MH7A sejtek | 305036

**Freeze
medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

MH7A sejtek | 305036

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés