

MH7A šūnas | 305036

Vispārīga informācija

Description

MH7A ir cilvēka sinoviālo fibroblastu šūnu līnija, kas imortalizēta ar stabilu SV40 lielā T antigēna ekspresiju un izveidota no kādas japāņu sievietes pacienta sinoviālā auda. MH7A aug kā adhezīva kultūra ar fibroblastveidīgu morfoloģiju un saglabā reimatoīdā artrīta sinoviālo fibroblastu (RASf) galvenās funkcionālās īpašības, tostarp reaģētspēju uz proinflammatoriskajiem citokīniem (IL-1 β , TNF- α), matriksa metaloproteāžu (MMP) ekspresiju un spēju iekļūt skrimšļa matiksā. Tā ir viena no visplašāk izmantotajām in vitro modelēm sinoviocītu bioloģijas un reimatoīdā artrīta patoģenēzes pētīšanai.

MH7A ir piemērota reimatoīdā artrīta pētījumiem, sinoviocītu aktivācijai, MMP un TIMP regulācijai, citokīnu signālceļiem (NF- κ B, JAK-STAT, MAPK), pretiekaisuma zāļu novērtēšanai (DMARD, bioloģiskie preparāti, JAK inhibitori) un locītavu destruktijas kopkultūras modeļiem. Šī līnija nodrošina konsekventu, reproducējamu RA sinoviocītu modeli, kas ļauj apiet primāro, no pacientiem iegūto RASf variabilitāti un ierobežoto pieejamību.

Organism

Cilvēks

Tissue

Sinovija

Disease

Sinoviālais fibroblasts (SV40 imortalizēts; modelē reimatoīdo artrīta sinoviocītu)

Metastatic site

Neattiecas (netumorigēns sinoviālo fibroblastu modelis)

Applications

Reimatoīdā artrīta pētījumi; sinoviocītu aktivācija; MMP/TIMP regulācija; NF- κ B/JAK-STAT/MAPK signālceļi; pretiekaisuma zāļu novērtēšana; locītavu destruktijas kopkultūras modeļi; citokīnu signālceļi

Raksturojums

Age

Vecums nav precizēts

Gender

Sievietes

Ethnicity

Japāņu

Morphology

fibroblastu līdzīgs

Cell type

Fibroblastu tipa sinoviocīts

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

MH7A šūnas | 305036

Citation	MH7A (Cytion kataloga numurs 305036)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0427
GMO Status	GMO-S1: MH7A tika imortalizēts, stabili integrējot SV40 lielā T antigēnu. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs tā var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 5 min., 37 °C
Doubling time	aptuveni 24 līdz 36 stundas
Subculturing	Noņemiet barotni, nomazgājiet ar PBS bez kalcija un magnija, pārlejiet ar 0,25 % tripsīnu, inkubējiet 37 °C temperatūrā 3–5 minūtes, atkārtoti suspendējiet barotnē, centrifugējiet 300×g 3 minūtes, izlejiet supernatantu, atkārtoti izsējiet.
Split ratio	1 : 8 sadalījums
Seeding density	1 līdz 3×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu $2 \text{ līdz } 5 \times 10^4$ šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

MH7A šūnas | 305036**Freeze
medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MH7A šūnas | 305036

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze