

Komórki MH7A | 305036

Informacje ogólne

Description

MH7A to ludzka linia komórkowa fibroblastów błony maziowej, uwieczniona poprzez stabilną ekspresję dużego antygeny T wirusa SV40, wyhodowana z tkanki błony maziowej pacjentki pochodzenia japońskiego. MH7A rośnie w postaci hodowli adhezyjnej o morfologii przypominającej fibroblasty i zachowuje kluczowe cechy funkcjonalne fibroblastów błony maziowej w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RASf), w tym reaktywność na cytokiny prozapalne (IL-1 β , TNF- α), ekspresję metaloproteinaz macierzy (MMP) oraz zdolność do inwazji macierzy chrzęstnej. Jest to jeden z najczęściej stosowanych modeli in vitro do badania biologii komórek błony maziowej oraz patogenezы RZS.

Linia MH7A ma zastosowanie w badaniach nad reumatoidalnym zapaleniem stawów, aktywacją synoviocytów, regulacją MMP i TIMP, sygnalizacją cytokinową (NF- κ B, JAK-STAT, MAPK), oceną leków przeciwreumatycznych (DMARD, leki biologiczne, inhibitory JAK) oraz w modelach współhodowli dotyczących destrukcji stawów. Linia ta zapewnia spójny, powtarzalny model synoviocytów RZS, który pozwala uniknąć zmienności i ograniczonej dostępności pierwotnych komórek RASF pochodzących od pacjentów.

Organism

Człowiek

Tissue

Błona maziowa

Disease

Fibroblast maziowy (unieśmierteliony wirusem SV40; model synoviocytów w reumatoidalnym zapaleniu stawów)

Metastatic site

Nie dotyczy (model fibroblastów błony maziowej o właściwościach nie nowotworowych)

Applications

Badania nad reumatoidalnym zapaleniem stawów; aktywacja komórek błony maziowej; regulacja MMP/TIMP; szlaki sygnałowe NF- κ B/JAK-STAT/MAPK; ocena leków przeciwreumatycznych; modele współhodowli z niszczeniem stawów; sygnalizacja cytokinowa

Charakterystyka

Age

Wiek nieokreślony

Gender

Kobieta

Ethnicity

Japoński

Morphology

podobny do fibroblastów

Cell type

Komórka błony maziowej o charakterze podobnym do fibroblastów

Growth properties

Adherent

Komórki MH7A | 305036

Dane regulacyjne

Citation	MH7A (numer katalogowy Cytion 305036)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0427
GMO Status	GMO-S1: Komórki MH7A zostały uodpornione poprzez stabilną integrację dużego antygenu T wirusa SV40. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 5 min., 37°C
Doubling time	ok. 24–36 godzin
Subculturing	Usunąć pożywkę, przemyć roztworem PBS bez wapnia i magnezu, zalać 0,25% roztworem trypsyny, inkubować w temperaturze 37°C przez 3–5 minut, ponownie zawiesić w pożywce, odwirować przy 300×g przez 3 minuty, odrzucić supernatant, ponownie wysiać komórki.
Split ratio	podział 1:8
Seeding density	od 1 do 3×10^4 komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu należy umieścić komórki w płytkach w ilości od 2 do 5×10^4 komórek/cm ² i pozostawić je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Komórki MH7A | 305036**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MH7A | 305036

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna