Product sheet

Клетки HEp-2 | 300397

Обща информация

Description	Клетъчната линия HEp-2, за която първоначално се смята, че е получена от клетки на рак на ларинкса, по-късно е идентифицирана чрез ДНК отпечатъци и наличие на маркерни хромозоми HeLa като заразена с клетки HeLa - клетъчна линия, получена от рак на маточната шийка. Въпреки това клетъчната линия HEp-2 продължава да се използва широко в индиректната имунофлуоресценция за откриване на антинуклеарни антитела (АНА), които са ключови при диагностицирането на състояния като системен лупус еритематозус и системна склероза. Стандартният метод за изследване на антинуклеарни антитела е индиректният имунофлуоресцентен анализ (IIFA) с използване на HEp-2 клетки, който дава ясни положителни или отрицателни резултати. Този прост подход е от решаващо значение за диагностицирането и класифицирането на различните системни автоимунни заболявания. Моделите на автоантителата, наблюдавани при индиректна имунофлуоресценция върху HEp-2 клетки, особено в контекста на ревматологията, осигуряват безценни прозрения за различните ревматични заболявания. Освен това изчерпателният преглед на антигените, експресирани от HEp-2 човешки клетки при различни условия на култивиране, позволява идентифицирането на специфични ANAs, свързани със заболявания като лупус. В заключение, въпреки че замърсяването на клетъчни линии като HEp-2 с HeLa клетки предизвика загриженост в изследванията на рака относно точността и надеждността на резултатите и тяхната клинична значимост, полезността на Hep-2 при откриването на антинуклеарни антитела и приложението ѝ в различни изследователски дисциплини подчертава нейното продължаващо значение. Клетъчната линия HEp-2 служи като основен инструмент при диагностицирането и класифицирането на автоимунни заболявания, наред с други приложения.
Organism	Човек
Tissue	Ларинкс
Disease	Аденокарцином
Applications	В ревматологията индиректната имунофлуоресценция с използване на HEp-2 клетки играе ключова роля при диагностицирането на автоимунни заболявания, включително системен лупус еритематозус и системна склероза
Synonyms	Hep-2, HEP-2, HEp-2/HeLa, Hep 2, Hep2, HEp2, HEP2, H.Ep.-2, H.Ep. #2, H.Ep. No. 2, Hep II, Human Epidermoid carcinoma #2, Human Epithelioma-2

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена

Клетки HEp-2 | 300397

Ethnicity	Афроамериканец
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEp-2 (каталожен номер 300397 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1906

Биомолекулярни данни

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Отрицателен
Products	Кератин

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Клетки HEp-2 | 300397

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10^{4} клетки/cm^{2}
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^{4} клетки/cm^{2} и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEp-2 | 300397

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEp-2 | 300397

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.