

Buňky HEP-2 | 300397**Obecné informace****Description**

Buněčná linie HEP-2, o níž se původně předpokládalo, že pochází z buněk rakoviny hrtanu, byla později pomocí otisků DNA a přítomnosti markerových chromozomů HeLa identifikována jako kontaminovaná s buňkami HeLa, buněčnou linií pocházející z rakoviny děložního čípku.

Přesto je buněčná linie HEP-2 nadále hojně využívána v nepřímé imunofluorescenci k detekci antinukleárních protilátek (ANA), které jsou klíčové při diagnostice stavů, jako je systémový lupus erythematosus a systémová skleróza. Standardní metodou pro testování antinukleárních protilátek je nepřímý imunofluorescenční test (IIFA) s použitím HEP-2 buněk, který poskytuje jasné pozitivní nebo negativní výsledky. Tento jednoduchý přístup má zásadní význam pro diagnostiku a klasifikaci různých systémových autoimunitních onemocnění.

Vzorce autoprotilátek pozorované při nepřímé imunofluorescenci na HEP-2 buňkách, zejména v kontextu revmatologie, poskytují neocenitelné poznatky o různých revmatických onemocněních. Komplexní přehled antigenů exprimovaných lidskými buňkami HEP-2 za různých kultivačních podmínek navíc umožňuje identifikovat specifické ANA spojené s nemocemi, jako je lupus.

Závěrem lze říci, že ačkoli kontaminace buněčných linií, jako jsou HEP-2, buňkami HeLa vyvolala ve výzkumu rakoviny obavy o přesnost a spolehlivost výsledků a jejich klinickou relevanci, užitečnost HEP-2 při detekci antinukleárních protilátek a její využití v různých výzkumných oborech podtrhuje její trvalý význam. Buněčná linie HEP-2 slouží mimo jiné jako základní nástroj při diagnostice a klasifikaci autoimunitních onemocnění.

Organism Člověk**Tissue** Hrtan**Disease** Adenokarcinom**Applications** V revmatologii hraje nepřímá imunofluorescence s použitím buněk HEP-2 zásadní roli při diagnostice autoimunitních onemocnění, včetně systémového lupus erythematosus a systémové sklerózy**Synonyms** Hep-2, HEP-2, HEP-2/HeLa, Hep 2, Hep2, HEP2, H.Ep.-2, H.Ep. #2, H.Ep. No. 2, Hep II, Human Epidermoid carcinoma #2, Human Epithelioma-2**Charakteristika****Age** 30 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Epitelu podobné

Buňky HEp-2 | 300397

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation HEp-2 (katalogové číslo Cytion 300397)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1906

Biomolekulární data

Isoenzymes G6PD, A

Reverse transcriptase Negativní

Products Keratin

Zpracování

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

Supplements Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:4 až 1:10

Buňky HEP-2 | 300397**Seeding density** 1 x 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10⁴ buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Buňky HEp-2 | 300397**Flask Coating** Žádný**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,10
D13S317: 12,13.3
D16S539: 9,10
D5S818: 11,12
D7S820: 8,12
TH01: 7
TPOX: 8,12
vWA: 16,18
D3S1358: 15,18
D21S11: 27,28
D18S51: 16
Penta E: 7,17
Penta D: 8,15
D8S1179: 12,13
FGA: 18,21
PEZ6: WT51