Product sheet

HEp-2-celler | 300397

Generel information

Description	HEp-2-cellelinjen, som man oprindeligt troede stammede fra larynxcancerceller, blev senere identificeret ved hjælp af DNA-fingeraftryk og tilstedeværelsen af HeLa-markørkromosomer som værende forurenet med HeLa-celler, en cellelinje, der stammede fra livmoderhalskræft. På trods af dette bruges HEp-2-cellelinjen stadig i vid udstrækning i indirekte immunfluorescens til at påvise antinukleære antistoffer (ANA'er), som er nøglen til at diagnosticere tilstande som systemisk lupus erythematosus og systemisk sklerose. Det indirekte immunfluorescensassay (IIFA) ved hjælp af HEp-2-celler, som giver klare positive eller negative resultater, er standardmetoden til testning af antinukleære antistoffer. Denne enkle tilgang er afgørende for at kunne diagnosticere og klassificere forskellige systemiske autoimmune sygdomme. De mønstre af autoantistoffer, der observeres ved indirekte immunfluorescens på HEp-2-celler, især i forbindelse med reumatologi, giver uvurderlig indsigt i forskellige reumatiske sygdomme. Desuden giver den omfattende gennemgang af antigener, der udtrykkes af HEp-2-celler under forskellige dyrkningsbetingelser, mulighed for at identificere specifikke ANA'er, der er forbundet med sygdomme som lupus. Selvom kontamineringen af cellelinjer som HEp-2 med HeLa-celler har givet anledning til bekymring i kræftforskningen om resultaternes nøjagtighed og pålidelighed og deres kliniske relevans, understreger Hep-2's anvendelighed til påvisning af antinukleære antistoffer og dens anvendelse på tværs af forskellige forskningsdiscipliner dens fortsatte betydning. HEp-2-cellelinjen er blandt andet et vigtigt værktøj til diagnosticering og klassificering af autoimmune sygdomme.
Organism	Menneske
Tissue	Strubehovedet
Disease	Adenokarcinom
Applications	Inden for reumatologi spiller indirekte immunfluorescens ved hjælp af HEp-2-celler en afgørende rolle i diagnosticeringen af autoimmune sygdomme, herunder systemisk lupus erythematosus og systemisk sklerose
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

Karakteristika

Age	30 år
Gender	Kvinde
Ethnicity	Afroamerikaner

HEp-2-celler | 300397

Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation	HEp-2 (Cytion katalognummer 300397)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1906

Biomolekylære data

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Negativ
Products	Keratin

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

HEp-2-celler | 300397

Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10^4 celler/cm^2, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium. 7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst. 8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.

HEp-2-celler | 300397

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.