

HEp-2-Zellen | 300397

Allgemeine Informationen

Description

Die HEp-2-Zelllinie, von der ursprünglich angenommen wurde, dass sie von Kehlkopfkrebszellen stammt, wurde später durch DNA-Fingerprinting und das Vorhandensein von HeLa-Markerchromosomen als mit HeLa-Zellen kontaminiert identifiziert, einer Zelllinie, die von Gebärmutterhalskrebs stammt.

Trotzdem wird die HEp-2-Zelllinie nach wie vor in großem Umfang für die indirekte Immunfluoreszenz zum Nachweis antinukleärer Antikörper (ANA) verwendet, die bei der Diagnose von Krankheiten wie systemischem Lupus erythematodes und systemischer Sklerose von entscheidender Bedeutung sind. Der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFA) unter Verwendung von HEp-2-Zellen, der eindeutig positive oder negative Ergebnisse liefert, ist die Standardmethode für den Nachweis antinukleärer Antikörper. Dieser unkomplizierte Ansatz ist für die Diagnose und Klassifizierung verschiedener systemischer Autoimmunerkrankungen von entscheidender Bedeutung.

Die bei der indirekten Immunfluoreszenz auf HEp-2-Zellen beobachteten Autoantikörpermuster liefern insbesondere im Zusammenhang mit der Rheumatologie unschätzbare Erkenntnisse über verschiedene rheumatische Erkrankungen. Darüber hinaus ermöglicht die umfassende Übersicht über die von menschlichen HEp-2-Zellen unter verschiedenen Kulturbedingungen exprimierten Antigene die Identifizierung spezifischer ANAs, die mit Krankheiten wie Lupus in Verbindung stehen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Kontamination von Zelllinien wie HEp-2 mit HeLa-Zellen in der Krebsforschung zwar zu Bedenken hinsichtlich der Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Ergebnisse und ihrer klinischen Relevanz geführt hat, der Nutzen von HEp-2 für den Nachweis antinukleärer Antikörper und seine Anwendung in verschiedenen Forschungsdisziplinen jedoch seine anhaltende Bedeutung unterstreichen. Die HEp-2-Zelllinie ist unter anderem ein wichtiges Instrument für die Diagnose und Klassifizierung von Autoimmunerkrankungen.

Organism Menschen

Tissue Kehlkopf

Disease Adenokarzinom

Applications In der Rheumatologie spielt die indirekte Immunfluoreszenz unter Verwendung von HEp-2-Zellen eine entscheidende Rolle bei der Diagnose von Autoimmunerkrankungen, einschließlich systemischem Lupus erythematodes und systemischer Sklerose

Synonyms Hep-2, HEP-2, HEp-2/HeLa, Hep 2, Hep2, HEp2, HEP2, H.Ep.-2, H.Ep. #Nr. 2, H.Ep. Nr. 2, Hep II, Menschliches Epidermoidkarzinom Nr. 2, Menschliches Epitheliom-2

Merkmale

Age 30 Jahre

Gender Weiblich

Hep-2-Zellen | 300397

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

Citation HEp-2 (Cytion Katalognummer 300397)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1906

Biomolekulare Daten

Isoenzymes G6PD, A

Reverse transcriptase Negativ

Products Keratin

Handhabung

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

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Hep-2-Zellen | 300397

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:10

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Hep-2-Zellen | 300397

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Hep-2-Zellen | 300397

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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