Product sheet

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 Autoimmunkrankheiten.
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 adhärenten 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/cm^2
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm^2 ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhärieren 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 °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 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten 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%$_{CO2}$, 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 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

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 und molekulare Analyse

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