

Κύτταρα HEp-2 | 300397

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HEp-2, η οποία αρχικά θεωρήθηκε ότι προέρχεται από κύτταρα καρκίνου του λάρυγγα, αναγνωρίστηκε αργότερα μέσω δακτυλικών αποτυπωμάτων DNA και της παρουσίας χρωμοσωμάτων-δεικτών HeLa ως μολυσμένη με κύτταρα HeLa, μια κυτταρική σειρά που προέρχεται από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Παρά το γεγονός αυτό, η κυτταρική σειρά HEp-2 εξακολουθεί να χρησιμοποιείται εκτενώς στον έμμεσο ανοσοφθορισμό για την ανίχνευση αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA), τα οποία αποτελούν κλειδί για τη διάγνωση καταστάσεων όπως ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος και η συστηματική σκλήρυνση. Η δοκιμασία έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIFA) με χρήση κυττάρων HEp-2, η οποία παρέχει σαφή θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα, αποτελεί την τυπική μέθοδο για τον έλεγχο των αντιπυρηνικών αντισωμάτων. Αυτή η απλή προσέγγιση είναι ζωτικής σημασίας για τη διάγνωση και την ταξινόμηση των διαφόρων συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων.

Τα μοτίβα των αυτοαντισωμάτων που παρατηρούνται στον έμμεσο ανοσοφθορισμό σε κύτταρα HEp-2, ιδίως στο πλαίσιο της ρευματολογίας, παρέχουν ανεκτίμητες πληροφορίες για διάφορες ρευματικές παθήσεις. Επιπλέον, η ολοκληρωμένη επισκόπηση των αντιγόνων που εκφράζονται από τα ανθρώπινα κύτταρα HEp-2 υπό διαφορετικές συνθήκες καλλιέργειας επιτρέπει τον εντοπισμό συγκεκριμένων ANAs που συνδέονται με ασθένειες όπως ο λύκος.

Συμπερασματικά, ενώ η επιμόλυνση κυτταρικών σειρών όπως η HEp-2 με κύτταρα HeLa έχει προκαλέσει ανησυχίες στην έρευνα για τον καρκίνο σχετικά με την ακρίβεια και την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων και την κλινική τους σημασία, η χρησιμότητα της HEp-2 στην ανίχνευση αντιπυρηνικών αντισωμάτων και η εφαρμογή της σε διάφορους ερευνητικούς κλάδους υπογραμμίζουν τη συνεχιζόμενη σημασία της. Η κυτταρική σειρά HEp-2 χρησιμεύει ως βασικό εργαλείο για τη διάγνωση και την ταξινόμηση αυτοάνοσων νοσημάτων, μεταξύ άλλων εφαρμογών.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Λάρυγγας

Disease Αδενοκαρκίνωμα

Applications Στη ρευματολογία, ο έμμεσος ανοσοφθορισμός με τη χρήση κυττάρων HEp-2 διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διάγνωση αυτοάνοσων νοσημάτων, συμπεριλαμβανομένου του συστηματικού ερυθματώδους λύκου και της συστηματικής σκλήρυνσης

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, Ανθρώπινο επιδερμοειδές καρκίνωμα #2, Ανθρώπινο επιθηλίωμα-2

Χαρακτηριστικά

Age 30 χρόνια

Κύτταρα HEp-2 | 300397

Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Αρνητικό
Products	Κερατίνη

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα HEp-2 | 300397

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HEp-2 | 300397

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HEp-2 | 300397

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.