

HEp-2 rakud | 300397

Üldine teave

Description

HEp-2 rakuliin, mis algselt arvati olevat pärit kõhunäärmevähi rakkudest, tuvastati hiljem DNA sõrmejälgede ja HeLa marker-kromosoomide olemasolu kaudu, et see on saastunud HeLa rakkude, emakakaelavähist saadud rakuliiniga.

Sellele vaatamata kasutatakse HEp-2 rakuliini jätkuvalt laialdaselt kaudses immunofluorestsentsis, et tuvastada antituumaalset antikehi (ANA), mis on võtmetähtsusega selliste haiguste nagu süsteemne erütematoosne luupus ja süsteemne skleroos diagnoosimisel. HEp-2 rakke kasutav kaudne immunofluorestsentsanalüüs (IIFA), mis annab selge positiivse või negatiivse tulemuse, on standardmeetod antituumaarsete antikehade testimiseks. See lihtne meetod on oluline erinevate süsteemsete autoimmuunhaiguste diagnoosimiseks ja klassifitseerimiseks.

HEp-2 rakkude kaudse immunofluorestsentsiga täheldatud autoantikehade mustrid, eriti reumatoloogia kontekstis, annavad hindamatut teavet erinevate reumaatiliste haiguste kohta. Lisaks sellele võimaldab HEp-2 inimrakkude poolt erinevates kultuuritingimustes ekspresseeritud antigeenide põhjalik ülevaade tuvastada spetsiifilisi ANAsid, mis on seotud selliste haigustega nagu luupus.

Kokkuvõtteks võib öelda, et kuigi HEp-2-suguste rakuliinide saastumine HeLa rakkudega on tekitanud vähiuuringutes muret tulemuste täpsuse ja usaldusväärsuse ning nende kliinilise asjakohasuse pärast, rõhutab HEp-2 kasulikkus antituumaalsete antikehade avastamisel ja selle kasutamine erinevates teadusdistsipliinides selle jätkuvat tähtsust. HEp-2 rakuliin on muu hulgas oluline vahend autoimmuunhaiguste diagnoosimisel ja klassifitseerimisel.

Organism Inimene**Tissue** Larynx**Disease** Adenokartsinoom**Applications** Reumatoloogias mängib kaudne immunofluorestsents, kasutades HEp-2 rakke, olulist rolli autoimmuunhaiguste, sealhulgas süsteemse erütematoosse luupuse ja süsteemse skleroosi diagnoosimisel**Synonyms** Hep-2, HEP-2, HEp-2/HeLa, Hep 2, Hep2, HEp2, HEP2, H.Ep.-2, H.Ep. #2, H.Ep. nr. 2, Hep II, Inimese epidermaalne kartsinoom #2, Inimese epiteeliom-2

Omadused

Age 30 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Afroameeriklane

HEp-2 rakud | 300397

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation HEp-2 (Cytioni katalooginumber 300397)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1906

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes G6PD, A

Reverse transcriptase Negatiivne

Products Keratiin

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAaga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

HEp-2 rakud | 300397

Seeding density 1 x 10⁴ rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x 10⁴ rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

HEp-2 rakud | 300397

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.