Product sheet

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 antituumaalseid 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	Larynks
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 epitelioom-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 kataloginumber 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 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali 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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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.
Flask Coating	Puudub

HEp-2 rakud | 300397

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.