

## HEp-2-solut | 300397

## Yleisiä tietoja

**Description**

HEp-2-solulinja, jonka alun perin uskottiin olevan peräisin kurkunpään syöpäsoluista, tunnistettiin myöhemmin DNA-sormenjälkien ja HeLa-merkkikromosomien esiintymisen perusteella kontaminoituneeksi HeLa-soluista, jotka olivat peräisin kohdunkaulan syövästä.

Tästä huolimatta HEp-2-solulinjaa hyödynnetään edelleen laajalti epäsuorassa immunofluoresenssissa antinukleaaristen vasta-aineiden (ANA) havaitsemiseksi, jotka ovat avainasemassa diagnosoitaessa sairauksia, kuten systeemistä lupus erythematosusta ja systeemistä skleroosia. Epäsuora immunofluoresenssimääritys (IIFA), jossa käytetään HEp-2-soluja ja joka antaa selkeän positiivisen tai negatiivisen tuloksen, on vakiomenetelmä antinukleaaristen vasta-aineiden testauksessa. Tämä suoraviivainen menetelmä on ratkaisevan tärkeä erilaisten systeemisten autoimmuunisairauksien diagnosoinnissa ja luokittelussa.

Epäsuorassa immunofluoresenssissa HEp-2-soluilla havaitut autovasta-aineiden mallit tarjoavat erityisesti reumatologian yhteydessä korvaamattomia tietoja erilaisista reumasairauksista. Lisäksi kattava katsaus ihmisen HEp-2-solujen eri viljelyolosuhteissa ilmentämiin antigeneihin mahdollistaa lupuksen kaltaisiin sairauksiin liittyvien spesifisten ANA:iden tunnistamisen.

Lopuksi voidaan todeta, että vaikka HEp-2:n kaltaisten solulinjojen kontaminaatio HeLa-solujen kanssa on herättänyt syöpätutkimuksessa huolta tulosten tarkkuudesta ja luotettavuudesta sekä niiden kliinisestä merkityksestä, Hep-2:n hyödyllisyys antinukleaaristen vasta-aineiden osoittamisessa ja sen soveltaminen eri tutkimusaloilla korostavat sen jatkuvaa merkitystä. HEp-2-solulinja on tärkeä väline muun muassa autoimmuunisairauksien diagnosoinnissa ja luokittelussa.

**Organism** Ihminen**Tissue** Kurkunpää**Disease** Adenokarsinooma**Applications** Reumatologiassa epäsuoralla immunofluoresenssilla, jossa käytetään HEp-2-soluja, on ratkaiseva merkitys autoimmuunisairauksien, kuten systeemisen lupus erythematosuksen ja systeemisen skleroosin, diagnosoinnissa**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, Human Epidermoid carcinoma #2, Human Epithelioma-2, Human Epithelioma-2

## Ominaisuudet

**Age** 30 vuotta**Gender** Nainen**Ethnicity** Afroamerikkalainen

## HEp-2-solut | 300397

**Morphology** Epiteelin kaltainen

**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** HEp-2 (Cytionin luettelonumero 300397)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1906

## Biomolekyyli tiedot

**Isoenzymes** G6PD, A

**Reverse transcriptase** Negatiivinen

**Products** Keratiini

## Käsittely

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**HEp-2-solut | 300397****Seeding density** 1 x 10<sup>4</sup> solua/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10<sup>4</sup> solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, kostutettu ilmakehä.

## HEp-2-solut | 300397

**Flask Coating** Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage Conditions**

Pitkäaikais säilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.