Product sheet

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 antigeeneihin 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

Sääntelytiedot

Citation	HEp-2 (Cytionin luettelonumero 300397)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1906

Biomolekyylitiedot

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Negatiivinen
Products	Keratiini

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO3, 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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

HEp-2-solut | 300397

Seeding density	1 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 %$_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.