

Cellules HEp-2 | 300397

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HEp-2, dont on pensait à l'origine qu'elle était dérivée de cellules de cancer du larynx, a ensuite été identifiée, grâce à l'empreinte ADN et à la présence de chromosomes marqueurs HeLa, comme étant contaminée par des cellules HeLa, une lignée cellulaire dérivée d'un cancer du col de l'utérus.

Malgré cela, la lignée cellulaire HEp-2 reste largement utilisée en immunofluorescence indirecte pour détecter les anticorps antinucléaires (ANA), qui sont essentiels pour diagnostiquer des maladies telles que le lupus érythémateux disséminé et la sclérose systémique. Le test d'immunofluorescence indirecte (IIFA) utilisant des cellules HEp-2, qui donne des résultats positifs ou négatifs clairs, est la méthode standard pour tester les anticorps antinucléaires. Cette approche simple est cruciale pour le diagnostic et la classification des différentes maladies auto-immunes systémiques.

Les profils d'auto-anticorps observés en immunofluorescence indirecte sur cellules HEp-2, en particulier dans le contexte de la rhumatologie, fournissent des informations précieuses sur les différentes maladies rhumatismales. En outre, l'examen complet des antigènes exprimés par les cellules humaines HEp-2 dans différentes conditions de culture permet d'identifier des ANA spécifiques liés à des maladies telles que le lupus.

En conclusion, bien que la contamination de lignées cellulaires telles que HEp-2 par des cellules HeLa ait suscité des inquiétudes dans la recherche sur le cancer quant à la précision et à la fiabilité des résultats et à leur pertinence clinique, l'utilité de Hep-2 dans la détection des anticorps antinucléaires et son application dans diverses disciplines de recherche soulignent son importance continue. La lignée cellulaire HEp-2 est un outil essentiel pour le diagnostic et la classification des maladies auto-immunes, entre autres applications.

Organism Humain

Tissue Larynx

Disease Adénocarcinome

Applications En rhumatologie, l'immunofluorescence indirecte sur cellules HEp-2 joue un rôle crucial dans le diagnostic des maladies auto-immunes, notamment le lupus érythémateux disséminé et la sclérose systémique

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

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-américain

Cellules HEp-2 | 300397**Morphology** De type épithélial**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** HEp-2 (numéro de catalogue Cytion 300397)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1906**Données biomoléculaires****Isoenzymes** G6PD, A**Reverse transcriptase** Négatif**Products** Kératine**Manipulation****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules HEp-2 | 300397

Split ratio Un rapport de 1:4 à 1:10 est recommandé

Seeding density 1×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules HEp-2 | 300397

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HEp-2 | 300397

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,10
D13S317: 12,13.3
D16S539: 9,10
D5S818: 11,12
D7S820: 8,12
TH01: 7
TPOX: 8,12
vWA: 16,18
D3S1358: 15,18
D21S11: 27,28
D18S51: 16
Penta E: 7,17
Penta D: 8,15
D8S1179: 12,13
FGA: 18,21
PEZ6: WT51