

HEp-2 sejtek | 300397

Általános információk

Description

A HEp-2 sejtvonalat, amelyről eredetileg azt hitték, hogy gégerákos sejtekből származik, később a DNS-ujjlenyomatok és a HeLa marker kromoszómák jelenléte alapján azonosították, hogy HeLa sejtekkel, egy méhnyakrákból származó sejtvonallal szennyezett.

Ennek ellenére a HEp-2 sejtvonalat továbbra is széles körben használják az indirekt immunfluoreszcenciában az antinukleáris antitestek (ANA) kimutatására, amelyek kulcsfontosságúak az olyan betegségek diagnosztizálásában, mint a szisztémás lupus erythematosus és a szisztémás szklerózis. Az antinukleáris antitestek vizsgálatának standard módszere a HEp-2 sejtek felhasználásával végzett indirekt immunfluoreszcens vizsgálat (IIFA), amely egyértelmű pozitív vagy negatív eredményt ad. Ez az egyszerű megközelítés kulcsfontosságú a különböző szisztémás autoimmun betegségek diagnosztizálásához és osztályozásához.

A HEp-2 sejteken végzett indirekt immunfluoreszcencia során megfigyelt autoantitestek mintázatai, különösen a reumatológia összefüggésében, felbecsülhetetlen értékű betekintést nyújtanak a különböző reumatikus betegségekbe. Továbbá a HEp-2 humán sejtek által különböző tenyésztési körülmények között kifejezett antigének átfogó áttekintése lehetővé teszi az olyan betegségekhez, mint a lupusz, kapcsolódó specifikus ANA-k azonosítását.

Összefoglalva, bár a HEp-2 és a HeLa sejtek szennyezettsége a rákkutatásban aggodalomra adott okot az eredmények pontosságával és megbízhatóságával, valamint klinikai relevanciájával kapcsolatban, a HEp-2 hasznossága az antinukleáris antitestek kimutatásában és a különböző kutatási tudományágakban való alkalmazása aláhúzza további fontosságát. A HEp-2 sejtvonalt többek között az autoimmun betegségek diagnosztizálásában és osztályozásában is alapvető eszközként szolgál.

Organism Emberi

Tissue Gége

Disease Adenokarcinóma

Applications A reumatológiában a HEp-2 sejtek felhasználásával végzett indirekt immunfluoreszcencia döntő szerepet játszik az autoimmun betegségek, köztük a szisztémás lupus erythematosus és a szisztémás szklerózis diagnosztizálásában

Synonyms Hep-2, HEP-2, HEp-2/HeLa, Hep 2, Hep2, Hep2, HEp2, HEP2, H.Ep.-2, H.Ep. #2, H.Ep. No. 2, Hep II, Humán epidermoid karcinóma #2, Humán epithelioma-2, Humán epithelioma-2

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Ethnicity Afroamerikai

HEp-2 sejtek | 300397

Morphology Epithelszerű

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation HEp-2 (Cytion katalógusszám: 300397)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1906

Biomolekuláris adatok

Isoenzymes G6PD, A

Reverse transcriptase Negatív

Products Keratin

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

HEp-2 sejtek | 300397**Seeding density** 1×10^4 sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

HEp-2 sejtek | 300397

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.