

HEp-2 ląstelės | 300397

Bendra informacija

Description

Iš pradžių manyta, kad HEp-2 ląstelių linija, gauta iš gerklų vėžio ląstelių, vėliau pagal DNR pirštų atspaudus ir HeLa chromosomų žymenų buvimą nustatyta, kad ji užkrėsta HeLa ląstelėmis, gautomis iš gimdos kaklelio vėžio.

Nepaisant to, HEp-2 ląstelių linija ir toliau plačiai naudojama netiesioginei imunofluorescencijai, siekiant nustatyti antinuklearinius antikūnus (ANA), kurie yra labai svarbūs diagnozuojant tokias ligas kaip sisteminė raudonoji vilkligė ir sisteminė sklerozė. Netiesioginės imunofluorescencijos tyrimas (TIFA) naudojant HEp-2 ląsteles, kuris duoda aiškius teigiamus arba neigiamus rezultatus, yra standartinis antinuklearinių antikūnų tyrimo metodas. Šis paprastas metodas yra labai svarbus diagnozuojant ir klasifikuojant įvairias sisteminės autoimunines ligas.

Netiesioginės imunofluorescencijos būdu ant HEp-2 ląstelių stebimi autoantikūnų modeliai, ypač reumatologijos kontekste, suteikia neįkainojamų įžvalgų apie įvairias reumatinės ligas. Be to, išsami antigenų, kuriuos žmogaus HEp-2 ląstelės išreiškia skirtingomis kultūros sąlygomis, apžvalga leidžia nustatyti specifinius ANA, susijusius su tokiomis ligomis kaip vilkligė.

Apibendrinant galima teigti, kad nors tokių ląstelių linijų, kaip HEp-2, užterštumas HeLa ląstelėmis sukėlė susirūpinimą vėžio tyrimų srityje dėl rezultatų tikslumo ir patikimumo bei jų klinikinės reikšmės, HEp-2 naudingumas nustatant antinuklearinius antikūnus ir jos taikymas įvairiose mokslinių tyrimų srityse pabrėžia jos nuolatinę svarbą. HEp-2 ląstelių linija, be kita ko, yra labai svarbi priemonė diagnozuojant ir klasifikuojant autoimunines ligas.

Organism Žmogus

Tissue Gerklos

Disease Adenokarcinoma

Applications Reumatologijoje netiesioginė imunofluorescencija, naudojant HEp-2 ląsteles, yra labai svarbi diagnozuojant autoimunines ligas, įskaitant sisteminę raudonąją vilkligę ir sisteminę sklerozę

Synonyms Hep-2, HEP-2, HEp-2/HeLa, Hep 2, Hep2, HEp2, HEp2, HEP2, H.Ep.-2, H.Ep. #2, H.Ep. Nr. 2, Hep II, Žmogaus epidermoidinė karcinoma #2, Žmogaus epiteliooma-2

Charakteristikos

Age 30 metų

Gender Moteris

Ethnicity Afroamerikietis

HEp-2 ląstelės | 300397**Morphology** | epitelį panašus**Growth properties** | Viensluoksnis, prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** | HEp-2 (Cytion katalogo numeris 300397)**Biosafety level** | 1**NCBI_TaxID** | 9606**CellosaurusAccession** | CVCL_1906**Biomolekuliniai duomenys****Isoenzymes** | G6PD, A**Reverse transcriptase** | Neigiamas**Products** | Keratinas**Tvarkymas****Culture Medium** | EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** | Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** | Accutase**Subculturing** | Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

HEp-2 ląstelės | 300397**Seeding density** 1 x 10⁴ ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10⁴ ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

HEp-2 ląstelės | 300397

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.