

## HEp-2 šūnas | 300397

## Vispārīga informācija

## Description

HEp-2 šūnu līnija, par kuru sākotnēji tika uzskatīts, ka tā iegūta no balsenes vēža šūnām, vēlāk, izmantojot DNS pirkstu nospiedumus un HeLa marķieru hromosomu klātbūtni, tika identificēta kā inficēta ar HeLa šūnām - šūnu līniju, kas iegūta no dzemdes kakla vēža.

Neraugoties uz to, HEp-2 šūnu līniju joprojām plaši izmanto netiešajā imunofluorescencē, lai noteiktu antinukleārās antivielas (ANA), kas ir ļoti svarīgas tādu slimību diagnosticēšanā kā sistēmiskā sarkanā vilkēde un sistēmiskā skleroze. Netiešās imunofluorescences tests (IIFA), izmantojot HEp-2 šūnas, kas nodrošina skaidrus pozitīvus vai negatīvus rezultātus, ir standarta metode pretkodu antivielu noteikšanai. Šī vienkāršā pieeja ir ļoti svarīga dažādu sistēmisku autoimūno slimību diagnosticēšanai un klasificēšanai.

Netiešajā imunofluorescencē ar HEp-2 šūnām novērotie autoantivielu modeļi, jo īpaši reimatoloģijas kontekstā, sniedz nenovērtējamu ieskatu par dažādām reimatiskām slimībām. Turklāt visaptverošais pārskats par antigēniem, ko dažādos kultūras apstākļos ekspresē HEp-2 cilvēka šūnas, ļauj identificēt specifiskas ANA, kas saistītas ar tādām slimībām kā lupus.

Nobeigumā jāsecina, ka, lai gan tādu šūnu līniju kā HEp-2 piesārņojums ar HeLa šūnām ir radījis bažas vēža pētījumos par rezultātu precizitāti un ticamību un to klīnisko nozīmi, HEp-2 lietderība antinukleāro antivielu noteikšanā un tās pielietojums dažādās pētniecības disciplīnās uzsver tās pastāvīgo nozīmi. HEp-2 šūnu līnija kalpo kā būtisks instruments autoimūno slimību diagnosticēšanā un klasificēšanā, kā arī citos pielietojumos.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Balsene

**Disease** Adenokarcinoma

**Applications** Reimatoloģijā netiešai imunofluorescences metodei, izmantojot HEp-2 šūnas, ir būtiska nozīme autoimūno slimību, tostarp sistēmiskās sarkanās vilkēdes un sistēmiskās sklerozes, diagnosticēšanā

**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, Human Epidermoid carcinoma #2, Human Epithelioma-2

## Raksturojums

**Age** 30 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Afroamerikānis

**Morphology** Epitēlijveidīgs

## HEp-2 šūnas | 300397

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

**Normatīvie dati**

**Citation** HEp-2 (Cytion kataloga numurs 300397)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1906

**Biomolekulārie dati**

**Isoenzymes** G6PD, A

**Reverse transcriptase** Negatīvs

**Products** Keratīns

**Darbs ar**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**HEp-2 šūnas | 300397****Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

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

## HEp-2 šūnas | 300397

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.