Product sheet

HEp-2-cellen | 300397

Algemene informatie

Description	De HEp-2 cellijn, waarvan oorspronkelijk gedacht werd dat deze afkomstig was van laryngeale kankercellen, werd later via DNA fingerprinting en de aanwezigheid van HeLa markerchromosomen geïdentificeerd als zijnde besmet met HeLa cellen, een cellijn die afkomstig was van baarmoederhalskanker. Desondanks wordt de HEp-2 cellijn nog steeds veel gebruikt in indirecte immunofluorescentie om antinucleaire antilichamen (ANA's) te detecteren, die belangrijk zijn bij de diagnose van aandoeningen zoals systemische lupus erythematosus en systemische sclerose. De indirecte immunofluorescentietest (IIFA) met HEp-2 cellen, die duidelijk positieve of negatieve resultaten oplevert, is de standaardmethode voor het testen van antinucleaire antilichamen. Deze eenvoudige aanpak is cruciaal voor het diagnosticeren en classificeren van verschillende systemische auto-immuunziekten. De patronen van autoantilichamen die worden waargenomen bij indirecte immunofluorescentie op HEp-2 cellen, vooral in de context van reumatologie, bieden inzichten van onschatbare waarde in verschillende reumatische ziekten. Bovendien maakt het uitgebreide overzicht van antigenen die tot expressie komen in HEp-2 cellen onder verschillende kweekomstandigheden het mogelijk om specifieke ANA's te identificeren die gekoppeld zijn aan ziekten zoals lupus. Concluderend kan worden gesteld dat, hoewel de vervuiling van cellijnen zoals HEp-2 met HeLa-cellen heeft geleid tot bezorgdheid in kankeronderzoek over de nauwkeurigheid en betrouwbaarheid van resultaten en hun klinische relevantie, het nut van HEp-2 in de detectie van antinucleaire antilichamen en de toepassing ervan in verschillende onderzoeksdisciplines het blijvende belang ervan onderstrepen. De HEp-2 cellijn is een essentieel hulpmiddel bij het diagnosticeren en classificeren van onder andere auto-immuunziekten.
Organism	Mens
Tissue	Strottenhoofd
Disease	Adenocarcinoom
Applications	In de reumatologie speelt indirecte immunofluorescentie met HEp-2 cellen een cruciale rol bij de diagnose van auto-immuunziekten, waaronder systemische lupus erythematosus en systemische sclerose
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, humaan epidermoïd carcinoom #2, humaan epithelioom-2

Kenmerken

Age	30 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Afro-Amerikaan

HEp-2-cellen | 300397

Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation	HEp-2 (Cytion catalogusnummer 300397)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1906

Biomoleculaire gegevens

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Negatief
Products	Keratine

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:4 tot 1:10 wordt aanbevolen

HEp-2-cellen | 300397

Seeding density	1 x 10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5 x 10^4 c^{ellen}/cm^2 en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

HEp-2-cellen | 300397

Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**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