Product sheet

HEp-2-celler | 300397

Generell informasjon

Description	HEp-2-cellelinjen, som opprinnelig ble antatt å stamme fra strupehodekreftceller, ble senere identifisert som kontaminert med HeLa-celler, en cellelinje som stammer fra livmorhalskreft, ved hjelp av DNA-fingeravtrykk og tilstedeværelsen av HeLa-markørkromosomer. Til tross for dette brukes HEp-2-cellelinjen fortsatt i stor utstrekning i indirekte immunfluorescens for å påvise antinukleære antistoffer (ANA), som er avgjørende for å diagnostisere tilstander som systemisk lupus erythematosus og systemisk sklerose. Den indirekte immunfluorescensanalysen (IIFA) med HEp-2-celler, som gir klare positive eller negative resultater, er standardmetoden for å teste antinukleære antistoffer. Denne enkle metoden er avgjørende for diagnostisering og klassifisering av ulike systemiske autoimmune sykdommer. Mønstrene av autoantistoffer som observeres ved indirekte immunfluorescens på HEp-2-celler, spesielt i forbindelse med revmatologi, gir uvurderlig innsikt i ulike revmatiske sykdommer. Den omfattende gjennomgangen av antigener som uttrykkes av HEp-2-celler under ulike dyrkingsforhold, gjør det dessuten mulig å identifisere spesifikke ANA-er knyttet til sykdommer som lupus. Selv om kontamineringen av cellelinjer som HEp-2 med HeLa-celler har ført til bekymring i kreftforskningen når det gjelder nøyaktigheten og pålideligheten av resultatene og deres kliniske relevans, understreker Hep-2s nytteverdi ved påvisning av antinukleære antistoffer og dens anvendelse på tvers av ulike forskningsdisipliner at den fortsatt er viktig. HEp-2-cellelinjen er et viktig verktøy i blant annet diagnostisering og klassifisering av autoimmune sykdommer.
Organism	Menneskelig
Tissue	Strupehodet
Disease	Adenokarsinom
Applications	Innen revmatologi spiller indirekte immunfluorescens ved hjelp av HEp-2-celler en avgjørende rolle i diagnostisering av autoimmune sykdommer, inkludert systemisk lupus erythematosus og systemisk sklerose
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, humant epidermoid karsinom #2, humant epiteliom-2

Kjennetegn

Age	30 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Epitel-lignende

HEp-2-celler | 300397

Growth properties	Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Negativ
Products	Keratin

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO3, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:4 til 1:10 anbefales

HEp-2-celler | 300397

Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen

HEp-2-celler | 300397

Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**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