Product sheet

Komórki HEp-2 | 300397

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa HEp-2, pierwotnie uważana za pochodzącą z komórek raka krtani, została później zidentyfikowana poprzez odciski palców DNA i obecność chromosomów markerowych HeLa jako zanieczyszczona komórkami HeLa, linią komórkową pochodzącą z raka szyjki macicy. Pomimo tego, linia komórkowa HEp-2 jest nadal szeroko wykorzystywana w immunofluorescencji pośredniej do wykrywania przeciwciał przeciwjądrowych (ANA), które są kluczowe w diagnozowaniu chorób takich jak toczeń rumieniowaty układowy i twardzina układowa. Test immunofluorescencji pośredniej (IIFA) z wykorzystaniem komórek HEp-2, który zapewnia wyraźne pozytywne lub negatywne wyniki, jest standardową metodą badania przeciwciał przeciwjądrowych. To proste podejście ma kluczowe znaczenie dla diagnozowania i klasyfikowania różnych ogólnoustrojowych chorób autoimmunologicznych. Wzory autoprzeciwciał obserwowane w immunofluorescencji pośredniej na komórkach HEp-2, szczególnie w kontekście reumatologii, zapewniają nieoceniony wgląd w różne choroby reumatyczne. Co więcej, kompleksowy przegląd antygenów wyrażanych przez ludzkie komórki HEp-2 w różnych warunkach hodowli umożliwia identyfikację specyficznych ANA związanych z chorobami takimi jak toczeń. Podsumowując, podczas gdy zanieczyszczenie linii komórkowych takich jak HEp-2 komórkami HeLa wywołało obawy w badaniach nad rakiem dotyczące dokładności i wiarygodności wyników oraz ich znaczenia klinicznego, użyteczność Hep-2 w wykrywaniu przeciwciał przeciwjądrowych i jego zastosowanie w różnych dyscyplinach badawczych podkreślają jego ciągłe znaczenie. Linia komórkowa HEp-2 służy jako podstawowe narzędzie w diagnozowaniu i klasyfikacji chorób autoimmunologicznych, wśród innych zastosowań.
Organism	Człowiek
Tissue	Krtań
Disease	Gruczolakorak
Applications	W reumatologii immunofluorescencja pośrednia z wykorzystaniem komórek HEp-2 odgrywa kluczową rolę w diagnozowaniu chorób autoimmunologicznych, w tym tocznia rumieniowatego układowego i twardziny układowej
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, Human Epidermoid carcinoma #2, Human Epithelioma-2

Charakterystyka

Age	30 lat
Gender	Kobieta
Ethnicity	Afroamerykanin

Komórki HEp-2 | 300397

Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Negatywny
Products	Keratyna

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:10

Komórki HEp-2 | 300397

Seeding density	1 x 10^4 kom^{órek}/cm^2
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki HEp-2 | 300397

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki HEp-2 | 300397

Profil STR

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