Product sheet

Células HEp-2 | 300397

Informações gerais

Description	A linha celular HEp-2, que originalmente se acreditava ser derivada de células cancerígenas da laringe, foi mais tarde identificada através de impressões digitais de ADN e da presença de cromossomas marcadores HeLa como estando contaminada com células HeLa, uma linha celular derivada do cancro do colo do útero. Apesar disso, a linha celular HEp-2 continua a ser amplamente utilizada na imunofluorescência indireta para detetar anticorpos antinucleares (ANAs), que são fundamentais no diagnóstico de doenças como o lúpus eritematoso sistémico e a esclerose sistémica. O ensaio de imunofluorescência indireta (IIFA) utilizando células HEp-2, que fornece resultados positivos ou negativos claros, é o método padrão para testar os anticorpos antinucleares. Esta abordagem simples é crucial para o diagnóstico e a classificação de diferentes doenças auto-imunes sistémicas. Os padrões de auto-anticorpos observados na imunofluorescência indireta em células HEp-2, especialmente no contexto da reumatologia, fornecem informações valiosas sobre várias doenças reumáticas. Além disso, a revisão exaustiva dos antigénios expressos pelas células humanas HEp-2 em diferentes condições de cultura permite a identificação de ANAs específicos ligados a doenças como o lúpus. Em conclusão, embora a contaminação de linhas celulares como a HEp-2 com células HeLa tenha suscitado preocupações na investigação do cancro quanto à exatidão e fiabilidade dos resultados e à sua relevância clínica, a utilidade da Hep-2 na deteção de anticorpos antinucleares e a sua aplicação em várias disciplinas de investigação sublinham a sua importância contínua. A linha celular HEp-2 é uma ferramenta essencial no diagnóstico e classificação de doenças auto-imunes, entre outras aplicações.
Organism	Humano
Tissue	Laringe
Disease	Adenocarcinoma
Applications	Em reumatologia, a imunofluorescência indireta utilizando células HEp-2 desempenha um papel crucial no diagnóstico de doenças auto-imunes, incluindo o lúpus eritematoso sistémico e a esclerose sistémica
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, Carcinoma epidermoide humano #2, Epitelioma humano-2

Caraterísticas

Age	30 anos
Gender	Feminino
Ethnicity	Afro-americano

Células HEp-2 | 300397

Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Monocamada, aderente

Dados regulamentares

Citation	HEp-2 (número de catálogo Cytion 300397)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1906

Dados biomoleculares

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Negativo
Products	Queratina

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Células HEp-2 | 300397

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Células HEp-2 | 300397

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.