Product sheet

Bunky HEp-2 | 300397

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia HEp-2, o ktorej sa pôvodne predpokladalo, že pochádza z buniek rakoviny hrtana, bola neskôr identifikovaná pomocou odtlačkov DNA a prítomnosti markerových chromozómov HeLa ako kontaminovaná bunkami HeLa, bunkovou líniou, ktorá pochádza z rakoviny krčka maternice. Napriek tomu sa bunková línia HEp-2 naďalej vo veľkej miere využíva v nepriamej imunofluorescencii na detekciu antinukleárnych protilátok (ANA), ktoré sú kľúčové pri diagnostike ochorení ako systémový lupus erythematosus a systémová skleróza. Štandardnou metódou testovania antinukleárnych protilátok je nepriamy imunofluorescenčný test (IIFA) s použitím buniek HEp-2, ktorý poskytuje jasné pozitívne alebo negatívne výsledky. Tento jednoduchý prístup je rozhodujúci pre diagnostiku a klasifikáciu rôznych systémových autoimunitných ochorení. Vzory autoprotilátok pozorované pri nepriamej imunofluorescencii na HEp-2 bunkách, najmä v kontexte reumatológie, poskytujú neoceniteľné poznatky o rôznych reumatických ochoreniach. Okrem toho komplexný prehľad antigénov exprimovaných ľudskými bunkami HEp-2 za rôznych kultivačných podmienok umožňuje identifikovať špecifické ANA spojené s ochoreniami, ako je napríklad lupus. Na záver možno konštatovať, že hoci kontaminácia bunkových línií, ako sú HEp-2, bunkami HeLa vyvolala vo výskume rakoviny obavy o presnosť a spoľahlivosť výsledkov a ich klinickú relevantnosť, užitočnosť HEp-2 pri detekcii antinukleárnych protilátok a jej použitie v rôznych výskumných disciplínach podčiarkuje jej pretrvávajúci význam. Bunková línia HEp-2 slúži okrem iného ako základný nástroj pri diagnostike a klasifikácii autoimunitných ochorení.
Organism	Ľudské
Tissue	Hrtan
Disease	Adenokarcinóm
Applications	V reumatológii zohráva nepriama imunofluorescencia pomocou buniek HEp-2 kľúčovú úlohu pri diagnostike autoimunitných ochorení vrátane systémového lupus erythematosus a systémovej sklerózy
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

Charakteristika

Age	30 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Afroameričan

Bunky HEp-2 | 300397

Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje

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

Biomolekulárne údaje

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Negatívne
Products	Keratín

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky HEp-2 | 300397

Seeding density	1 x 10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10^4 buniek/cm^2 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Bunky HEp-2 | 300397

Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.