

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 antinukleárných protilátok (ANA), ktoré sú kľúčové pri diagnostike ochorení ako systémový lupus erythematosus a systémová skleróza. Štandardnou metódou testovania antinukleárných 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 antinukleárných 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 odstredujte 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 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10⁴ buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne 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 regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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 / Genetický profil / HLA

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.