

Celice HEp-2 | 300397

Splošne informacije

Description

Za celično linijo HEp-2, za katero se je prvotno domnevalo, da je pridobljena iz celic raka grla, je bilo pozneje s pomočjo prstnih odtisov DNK in prisotnosti označevalnih kromosomov HeLa ugotovljeno, da je okužena s celicami HeLa, celično linijo, ki je bila pridobljena iz raka materničnega vratu.

Kljub temu se celična linija HEp-2 še vedno pogosto uporablja v posredni imunofluorescenci za odkrivanje antinuklearnih protiteles (ANA), ki so ključna pri diagnosticiranju bolezni, kot sta sistemski lupus eritematosus in sistemska skleroza. Posredni imunofluorescenčni test (IIFA) z uporabo celic HEp-2, ki daje jasne pozitivne ali negativne rezultate, je standardna metoda za testiranje antinuklearnih protiteles. Ta enostaven pristop je ključen za diagnosticiranje in razvrščanje različnih sistemskih avtoimunskih bolezni.

Vzorci avtoprotiteles, opaženi pri posredni imunofluorescenci na celicah HEp-2, zlasti v kontekstu revmatologije, zagotavljajo neprecenljiv vpogled v različne revmatske bolezni. Poleg tega izčrpen pregled antigenov, ki jih izražajo človeške celice HEp-2 v različnih pogojih gojenja, omogoča identifikacijo specifičnih ANA, povezanih z boleznimi, kot je lupus.

Skratka, čeprav je kontaminacija celičnih linij, kot je HEp-2, s celicami HeLa pri raziskavah raka sprožila zaskrbljenost glede natančnosti in zanesljivosti rezultatov ter njihove klinične ustreznosti, uporabnost HEp-2 pri odkrivanju antinuklearnih protiteles in njegova uporaba na različnih raziskovalnih področjih poudarjata njegov nadaljnji pomen. Celična linija HEp-2 je med drugim pomembno orodje za diagnosticiranje in razvrščanje avtoimunskih bolezni.

Organism Človek

Tissue Grtan

Disease Adenokarcinom

Applications V revmatologiji ima posredna imunofluorescenca z uporabo celic HEp-2 ključno vlogo pri diagnosticiranju avtoimunskih bolezni, vključno s sistemskim eritematoznim lupusom in sistemsko sklerozo

Synonyms Hep-2, HEP-2, HEp-2/HeLa, Hep 2, Hep2, HEp2, HEP2, H.Ep.-2, H.Ep. #2, H.Ep. št. 2, Hep II, Human Epidermoid carcinoma #2, Human Epithelioma-2

Značilnosti

Age 30 let

Gender Ženske

Ethnicity Afroameričan

Morphology Epitelijam podobni

Celice HEp-2 | 300397

Growth properties Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation HEp-2 (kataloška številka Cytion 300397)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1906

Biomolekularni podatki

Isoenzymes G6PD, A

Reverse transcriptase Negativni

Products Keratin

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Celice HEp-2 | 300397

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, vlažno ozračje.

Celice HEp-2 | 300397

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.