

## Buňky HeLa | 300194

## Obecné informace

## Description

Buňky HeLa, odvozené z buněk rakoviny děložního čípku Henrietty Lacksové, jsou nesmrtelnou buněčnou linií hojně využívanou v biomedicinském výzkumu. Lidská buněčná linie HeLa významně přispěla k významným pokrokům ve výzkumu a nadále hraje klíčovou roli v laboratořích po celém světě.

V roce 1951 vyhledala Henrietta Lacksová, mladá matka pěti dětí, lékařskou pomoc v nemocnici Johnse Hopkinse kvůli krvácení z pochvy, kde doktor Howard Jones identifikoval významný zhoubný nádor na děložním čípku. V té době patřil Lékařský ústav Johnse Hopkinse k několika málo institucím, které nabízely lékařskou péči chudým Afroameričanům. Henrietta Lacksová podstoupila léčbu rakoviny děložního čípku pomocí radia, což byla tehdy nejmodernější dostupná terapie. Během léčby jí byla provedena biopsie a vzorek rakovinných buněk byl odeslán do laboratoře Dr. George Otto Geye. Dr. Gey se pokoušel kultivovat buňky pacientek s rakovinou děložního čípku různého původu, ale bez úspěchu, dokud se neobjevily Henrietty buňky, které se jako první nepřetržitě množily, což je odlišovalo od všech předchozích vzorků.

Později bylo zjištěno, že karcinom děložního čípku Henrietty Lacksové byl způsoben lidským papilomavirem (HPV). HPV je běžný virus, který může vést mimo jiné k rakovině děložního čípku. Výzkum na HeLa buňkách významně přispěl k pochopení úlohy HPV při vzniku rakoviny děložního čípku a vedl k vývoji preventivních HPV vakcín, které měly zásadní vliv na snížení výskytu rakoviny související s HPV.

Tyto výjimečné buňky, označované podle iniciál Henrietty Lacksové jako buňky "HeLa", se od té doby staly nástrojem lékařského výzkumu. Umožnily vědcům zkoumat růst rakovinných buněk, vliv různých látek a fungování virů, čímž významně přispěly k pokroku v medicíně, včetně vývoje vakcín proti dětské obrně a COVID-19, aniž by se museli obávat etických problémů spojených s přímými pokusy na lidech.

HeLa buňky se díky své vysoké účinnosti transfekce a náchylnosti k virovým infekcím hojně využívají pro studium funkce genů, produkci rekombinantních proteinů a genovou terapii. Jsou klíčové při výzkumu chování virů, včetně replikace a patogeneze, a sehrály klíčovou roli ve výzkumu hepatitidy B tím, že exprimují virové proteiny a pomáhají při vývoji diagnostických testů a vakcín, čímž významně přispívají k celosvětovým zdravotním opatřením.

Buňky HeLa jsou i nadále neocenitelným zdrojem pro probíhající výzkum v medicíně a vědě. Význam buněk HeLa a dalších nesmrtelných buněčných linií nelze přeceňovat, neboť nadále utvářejí obor medicíny a výzkumu infekčních chorob a představují trvalý odkaz Henrietty Lacksové a jejího přínosu k vědeckému pokroku.

**Organism** Člověk

**Tissue** Cervix

**Disease** Adenokarcinom

**Applications** Transfekční hostitel

**Synonyms** HELA, Hela, He La, He-La, Henrietta Lacks buňky, Helacyton gartleri

## Charakteristika

**Buňky HeLa | 300194**

<b>Age</b>	30 let
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Afroameričan
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Growth properties</b>	Adherentní

**Regulační údaje**

<b>Citation</b>	HeLa (katalogové číslo Cytion 300194)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0030

**Biomolekulární data**

<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A
<b>Virus susceptibility</b>	Lidský adenovirus 3, virus encefalomyokarditidy, lidský poliovirus 1, lidský poliovirus 2, lidský poliovirus 3
<b>Reverse transcriptase</b>	Negativní

**Products** Keratin, lysofosfatidylcholin (lyso-PC) indukuje aktivitu AP-1 a c-jun N-terminální kinázy (JNK1) cestou nezávislou na proteinkináze C

**Karyotype** Buněčná linie HeLa s komplexním karyotypem s vysokým stupněm aneuploidie a strukturálních přestaveb je známá svým rychlým růstem a dlouhou životností v kultuře. HeLa buňky obvykle vykazují 82 chromozomů, ačkoli jejich rozsah se může pohybovat od 70 do 164. Pozoruhodné je, že 98 % buněk HeLa má malý telocentrický chromozom a 100 % buněk vykazuje aneuploidii u značného počtu zkoumaných buněk. Tyto chromozomální abnormality jsou základem jejich rychlého růstu a nesmrtnosti spolu s jejich spojením s rakovinou děložního čípku a dalšími rakovinnými buňkami.

**Zpracování**

## Buňky HeLa | 300194

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	28 až 36 hodin
<b>Subculturing</b>	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:6
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> buněk/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 až 3krát týdně
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrazení naneste buňky v množství 2 až 3 x 10 <sup>4</sup> buněk/cm <sup>2</sup> a nechte buňky zotavit se z procesu zmrazení a přilnout po dobu nejméně 24 až 48 hodin.
<b>Freeze medium</b>	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

## Buňky HeLa | 300194

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žádný

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Buňky HeLa | 300194****Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

**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  
**D6S1043:** 18  
**D2S1338:** 17  
**D12S391:** 20,25  
**D19S433:** 13,14

**Alely HLA**

**A\*:** '68:02:01  
**B\*:** '15:03:01  
**C\*:** '12:03:01  
**DRB1\*:** '01:02:01  
**DQA1\*:** '01:01:02  
**DQB1\*:** '05:01:01  
**DPB1\*:** '01:01:01  
**E:** '01:03:02