

HeLa rakud | 300194

Üldine teave

Description

Henrietta Lacksi emakakaelavähirakkudest saadud HeLa rakud on surematu rakuliin, mida kasutatakse laialdaselt biomeditsiinilistes uuringutes. Inimese rakuliin Hela on oluliselt kaasa aidanud olulistele teadustöö edusammudele ja mängib jätkuvalt olulist rolli laborites kogu maailmas.

1951. aastal pöördus Henrietta Lacks, noor viie lapse ema, vaginaalse verejooksu tõttu Johns Hopkinsi haiglasse, kus dr Howard Jones tuvastas tema emakakaelal märkimisväärse pahaloomulise kasvaja. Sel ajal oli Johns Hopkinsi meditsiini instituut üks väheseid asutusi, mis pakkus arstiabi vaesunud afroameeriklastele. Henrietta Lacks läbis emakakaelavähi raadiumravi, mis oli tollal juhtiv ravi. Ravi ajal tehti biopsia ja vähirakkude proov saadeti dr George Otto Gey laborisse. Dr. Gey oli püüdnud kasvatada rakke erinevatest emakakaelavähiga patsientidest, kuid edutult, kuni Henrietta rakud olid esimesed rakud, mis paljunesid pidevalt, mis eristas neid kõigist varasematest proovidest.

Hiljem leiti, et Henrietta Lacksi emakakaelavähki põhjustas inimese papilloomiviirus (HPV). HPV on levinud viirus, mis võib muude haiguste hulgas põhjustada emakakaelavähki. HeLa rakkudega tehtud uuringud on oluliselt kaasa aidanud HPV rolli mõistmisele emakakaelavähis, mis on viinud ennetavate HPV-vaktsiinide väljatöötamiseni, millel on olnud suur mõju HPV-ga seotud vähkkasvajate esinemissageduse vähendamisele.

Need erakordsed rakud, mida Henrietta Lacksi nime järgi nimetatakse "HeLa" rakkudeks, on sellest ajast peale muutunud meditsiinilistes teadusuuringutes oluliseks. Nad on võimaldanud teadlastel uurida vähirakkude kasvu, erinevate ainete mõju ja viiruste toimimist, aidates oluliselt kaasa meditsiinilistele edusammudele, sealhulgas poliomüeliidi ja COVID-19 vaktsiini väljatöötamisele, ilma et otseste inimkatsetega seotud eetilised probleemid oleksid kõrvaldatud.

HeLa rakke kasutatakse laialdaselt geenifunktsiooni uuringutes, rekombinantsete valkude tootmisel ja geeniteraapias tänu nende suurele transfektsiooni tõhususele ja tundlikkusele viirusnakkuste suhtes. Neil on keskne roll viiruste käitumise, sealhulgas replikatsiooni ja patogeneesi uurimisel ning nad on mänginud olulist rolli B-hepatiidi uuringutes, ekspresseerides viiruse valke ja aidates kaasa diagnostiliste testide ja vaktsiinide väljatöötamisele, edendades seeläbi märkimisväärselt ülemaailmseid tervishoiumeetmeid.

HeLa rakud on jätkuvalt hindamatu ressurs meditsiinis ja teaduses tehtavateks teadusuuringuteks. HeLa rakkude ja teiste surematute rakuliinide tähtsust ei saa üle hinnata, sest need kujundavad jätkuvalt meditsiini ja nakkushaiguste uurimist ning kujutavad endast Henrietta Lacksi ja tema panuse teaduse arengusse kestvat pärandit.

Organism Inimene

Tissue Emakakael

Disease Adenokartsinoom

Applications Transfektsiooni peremees

Synonyms HELA, Hela, He La, He-La, Henrietta Lacksi rakud, Helacyton gartleri

Omadused

HeLa rakud | 300194

Age	30 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Afroameeriklane
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HeLa (Cytioni katalooginumber 300194)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0030

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Inimese adenoviirus 3, entsefalomüokardiidi viirus, inimese polioviirus 1, inimese polioviirus 2, inimese polioviirus 3
Reverse transcriptase	Negatiivne

Products Keratiin, lüsofosfatidüülkoliin (lyso-PC) indutseerib AP-1 aktiivsust ja c-jun N-terminaalse kinaasi (JNK1) aktiivsust valgukinaasist C-independentse tee kaudu

Karyotype HeLa rakuliin, mille keerukas karyotüüp on kõrge aneuploiduse ja struktuursete ümberkorralduste tasemega, on tuntud oma kiire kasvu ja pikaealisuse poolest kultuuris. HeLa rakkudel on tavaliselt 82 kromosoomi, kuigi see võib varieeruda vahemikus 70-164. Eelkõige on 98%-l HeLa rakkudest väike telotsentriline kromosoom ja 100%-l on aneuploidus märkimisväärsel hulgal uuritud rakkudest. Need kromosoomianomaaliad toetavad nende kiiret kasvu ja surematust ning nende seost emakakaelavähi ja teiste vähirakkudega.

Töötlemine

HeLa rakud | 300194

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28-36 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega $2-3 \times 10^4$ rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24-48 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüsosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HeLa rakud | 300194

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HeLa rakud | 300194

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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