Product sheet

HeLa šūnas | 300194

Vispārīga informācija

Description	HeLa šūnas, kas iegūtas no Henriettas Lacks dzemdes kakla vēža šūnām, ir nemirstīga šūnu līnija, ko plaši izmanto biomedicīnas pētījumos. Cilvēka šūnu līnija Hela ir ievērojami veicinājusi nozīmīgus pētniecības sasniegumus, un tai joprojām ir būtiska nozīme laboratorijās visā pasaulē. 1951. gadā Henrieta Lacksa, jauna piecu bērnu māte, vērsās pēc medicīniskās palīdzības Džona Hopkinsa (The Johns Hopkins) slimnīcā vaginālas asiņošanas dēļ, kur Dr. Hovards Džonss konstatēja ievērojamu ļaundabīgu audzēju viņas dzemdes kaklā. Tajā laikā Džona Hopkinsa Medicīnas institūts bija viena no nedaudzajām iestādēm, kas piedāvāja medicīnisko aprūpi trūcīgajiem afroamerikāņiem. Henrietai Lacks dzemdes kakla vēža ārstēšanai tika veikta terapija ar radiju, kas tolaik bija vadošā pieejamā terapija. Ārstēšanas laikā tika veikta biopsija, un viņas vēža šūnu paraugs tika nosūtīts uz Dr. Džordža Otto Geja laboratoriju. Dr. Geijs bija mēģinājis kultivēt šūnas no dažādām dzemdes kakla vēža pacientēm, taču nesekmīgi, līdz Henrietas šūnām, kas bija pirmās šūnas, kuras nepārtraukti vairojās, un šis atklājums atšķīra tās no visiem iepriekšējiem paraugiem. Vēlāk atklājās, ka Henriettas Lacksas dzemdes kakla karcinomu izraisīja cilvēka papilomas vīruss (HPV). HPV ir izplatīts vīruss, kas cita starpā var izraisīt dzemdes kakla vēzi. Pētījumi ar HeLa šūnām ir būtiski veicinājuši izpratni par HPV lomu dzemdes kakla vēža rašanās procesā, kā rezultātā tika izstrādātas profilaktiskās HPV vakcīnas, kas būtiski ietekmēja ar HPV saistīto vēža saslimstības samazināšanos. Šīs neparastās šūnas, ko pēc Henriettas Lacksas iniciāļiem dēvē par "HeLa" šūnām, kopš tā laika ir kļuvušas par nozīmīgu medicīnas pētījumu instrumentu. Tās ir ļāvušas zinātniekiem pētīt vēža šūnu augšanu, dažādu vielu ietekmi un vīrusu darbību, būtiski veicinot medicīnas sasniegumus, tostarp vakcīnu pret poliomielītu un COVID-19 izstrādi, neradot ētiskas bažas par tiešiem eksperimentiem ar cilvēkiem. HeLa šūnas plaši izmanto gēnu funkciju pētījumiem, rekombinantu proteīnu ražošanai un gēnu terapijai, jo tās ir ļoti efektīvas transfekcijas un uzņēmīgas pret vīrusu infekcijām. Tās ir ļoti svarīgas vīrusu uzvedības, tostarp replikācijas un patoģenēzes, izpētē, un tām ir bijusi galvenā loma B hepatīta pētniecībā, jo tās ir ekspresējušas vīrusu proteīnus un palīdzējušas izstrādāt diagnostikas testus un vakcīnas, tādējādi būtiski veicinot globālos veselības aizsardzības pasākumus. HeLa šūnas joprojām ir nenovērtējams resurss medicīnā un zinātnē notiekošajos pētījumos. HeLa šūnu un citu nemirstīgo šūnu līniju nozīmi nevar pārvērtēt, jo tās turpina veidot medicīnas un infekcijas slimību pētniecību, un tās ir paliekošs Henriettas Lacks un viņas ieguldījuma zinātnes attīstībā mantojums.
Organism	Cilvēks
Tissue	Dzemdes kakls
Disease	Adenokarcinoma
Applications	Transfekcijas saimnieks
Synonyms	HELA, Hela, He La, He-La, Henrietta Lacks šūnas, Helacyton gartleri

Raksturojums

HeLa šūnas | 300194

Age	30 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Afroamerikānis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	HeLa (Cytion kataloga numurs 300194)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0030

Biomolekulārie dati

Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Cilvēka adenovīruss 3, Encefalomijokardīta vīruss, Cilvēka poliovīruss 1, Cilvēka poliovīruss 2, Cilvēka poliovīruss 3
Reverse transcriptase	Negatīvs
Products	Keratīns, lizofosfatidilholīns (lizo-PC) inducē AP-1 aktivitāti un c-jun N-terminālās kināzes (JNK1) aktivitāti, izmantojot no proteīnkināzes C neatkarīgu ceļu
Karyotype	HeLa šūnu līnija ar sarežģītu kariotipu, kam raksturīga augsta aneuploīdijas pakāpe un strukturālas pārkārtojuma izmaiņas, ir pazīstama ar savu ātro augšanu un ilgmūžību kultūrā. HeLa šūnām parasti ir 82 hromosomas, lai gan to diapazons var svārstīties no 70 līdz 164 hromosomām. Jo īpaši 98 % HeLa šūnu ir maza telocentriska hromosoma, un 100 % no tām ir aneuploīdija ievērojamā skaitā pārbaudīto šūnu. Šīs hromosomu anomālijas ir pamatā to ātrai augšanai un nemirstībai, kā arī to saiknei ar dzemdes kakla vēzi un citām vēža šūnām.

Darbs ar

HeLa šūnas | 300194

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 līdz 36 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1×10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas 2 līdz 3×10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 līdz 48 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HeLa šūnas | 300194

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.

2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.

3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.

4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.

5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.

6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.

7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.

8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HeLa šūnas | 300194

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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