

Komórki HeLa | 300194**Informacje ogólne****Description**

Komórki HeLa, pochodzące z komórek raka szyjki macicy Henrietty Lacks, są nieśmiertelną linią komórkową szeroko stosowaną w badaniach biomedycznych. Ludzka linia komórkowa HeLa znacząco przyczyniła się do znaczących postępów w badaniach i nadal odgrywa kluczową rolę w laboratoriach na całym świecie.

W 1951 roku Henrietta Lacks, młoda matka pięciorga dzieci, zgłosiła się do szpitala Johns Hopkinsa z powodu krwawienia z pochwy, gdzie dr Howard Jones zidentyfikował znaczny nowotwór złośliwy na jej szyjce macicy. W tym czasie Instytut Medycyny Johns Hopkinsa był jedną z niewielu instytucji oferujących opiekę medyczną uboższemu Afroamerykanom. Henrietta Lacks przeszła leczenie raka szyjki macicy radem, wiodącą dostępną wówczas terapią. Podczas leczenia przeprowadzono biopsję, a próbkę jej komórek rakowych wysłano do laboratorium dr George'a Otto Geya. Dr Gey próbował hodować komórki od pacjentów z rakiem szyjki macicy z różnych środowisk, ale bez powodzenia, aż do komórek Henrietty, które były pierwszymi komórkami, które proliferowały w sposób ciągły, co odróżniło je od wszystkich poprzednich próbek.

Później okazało się, że rak szyjki macicy Henrietty Lacks był spowodowany wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV). HPV to powszechny wirus, który może prowadzić między innymi do raka szyjki macicy. Badania nad komórkami HeLa znacząco przyczyniły się do zrozumienia roli wirusa HPV w raku szyjki macicy, prowadząc do opracowania profilaktycznych szczepionek przeciwko HPV, które miały ogromny wpływ na zmniejszenie częstości występowania nowotworów związanych z HPV.

Te niezwykle komórki, nazwane komórkami "HeLa" od inicjałów Henrietty Lacks, stały się instrumentalne w badaniach medycznych. Umożliwiły one naukowcom badanie wzrostu komórek nowotworowych, wpływu różnych substancji i działania wirusów, znacząco przyczyniając się do postępu w medycynie, w tym do opracowania szczepionek na polio i COVID-19, bez obaw etycznych związanych z bezpośrednimi eksperymentami na ludziach.

Komórki HeLa są szeroko stosowane do badań funkcji genów, produkcji białek rekombinowanych i terapii genowej ze względu na ich wysoką wydajność transfekcji i podatność na infekcje wirusowe. Odgrywają kluczową rolę w badaniach nad zachowaniami wirusów, w tym replikacją i patogenezą, a także odegrały kluczową rolę w badaniach nad wirusowym zapaleniem wątroby typu B poprzez ekspresję białek wirusowych i pomoc w opracowaniu testów diagnostycznych i szczepionek, tym samym znacznie przyspieszając globalne działania zdrowotne.

Komórki HeLa są nadal nieocenionym źródłem informacji dla trwających badań w medycynie i nauce. Znaczenie komórek HeLa i innych nieśmiertelnych linii komórkowych jest nie do przecenienia, ponieważ nadal kształtują one medycynę i badania nad chorobami zakaźnymi, a także stanowią trwałe dziedzictwo Henrietty Lacks i jej wkładu w rozwój nauki.

Organism Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Gruczolakorak**Applications** Host transfekcji

Komórki HeLa | 300194

Synonyms HELA, Hela, He La, He-La, komórki Henrietty Lacks, Helacyton gartleri

Charakterystyka

Age 30 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Afroamerykanin

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HeLa (numer katalogowy Cytion 300194)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0030

Dane biomolekularne

Isoenzymes G6PD, A

Virus susceptibility Ludzki adenowirus 3, wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego, ludzki wirus polio 1, ludzki wirus polio 2, ludzki wirus polio 3

Reverse transcriptase Negatywny

Products Keratyna, lizofosfatydylocholina (lizo-PC) indukuje aktywność AP-1 i aktywność c-końcowej kinazy c-jun (JNK1) poprzez szlak niezależny od kinazy białkowej C

Komórki HeLa | 300194

Karyotype Linia komórek HeLa, o złożonym karyotypie charakteryzującym się wysokim stopniem aneuploidii i rearanżacji strukturalnych, znana jest z szybkiego wzrostu i długowieczności w hodowli. Komórki HeLa mają zazwyczaj 82 chromosomy, choć ich liczba może wahać się od 70 do 164. Warto zauważyć, że 98% komórek HeLa posiada mały telocentryczny chromosom, a 100% wykazuje aneuploidię w znacznej liczbie badanych komórek. Te nieprawidłowości chromosomalne leżą u podstaw ich szybkiego wzrostu i nieśmiertelności, a także ich związku z rakiem szyjki macicy i innymi komórkami nowotworowymi.

Obsługa

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 28 do 36 godzin

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:6

Seeding density 1×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu należy umieścić komórki w płytkach w ilości 2 do 3×10^4 komórek/cm² i pozostawić je na co najmniej 24 do 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HeLa | 300194**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HeLa | 300194

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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

Komórki HeLa | 300194

Allele 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