

**Bunky HeLa | 300194****Všeobecné informácie****Description**

Bunky HeLa, odvodené z buniek rakoviny krčka maternice Henrietty Lacksovej, sú nesmrteľnou bunkovou líniou, ktorá sa vo veľkej miere používa v biomedicínskom výskume. Ľudská bunková línia HeLa významne prispela k významnému pokroku vo výskume a naďalej zohráva kľúčovú úlohu v laboratóriách na celom svete.

V roku 1951 Henrietta Lacksová, mladá matka piatich detí, vyhľadala lekársku pomoc v nemocnici Johnsa Hopkinsa kvôli krvácaniu z pošvy, kde doktor Howard Jones identifikoval významný zhubný nádor na jej krčku maternice. V tom čase patril Inštitút medicíny Johnsa Hopkinsa medzi niekoľko málo inštitúcií, ktoré poskytovali lekársku starostlivosť chudobným Afroameričanom. Henrietta Lacksová podstúpila liečbu rakoviny krčka maternice rádiom, čo bola vtedy hlavná dostupná liečba. Počas liečby jej bola vykonaná biopsia a vzorka rakovinových buniek bola odoslaná do laboratória Dr. Georgea Otta Geya. Dr. Gey sa pokúšal kultivovať bunky pacientov s rakovinou krčka maternice rôzneho pôvodu, ale bez úspechu, až kým sa neobjavili Henriettine bunky, ktoré sa ako prvé bunky nepretržite množili, čo ich odlišovalo od všetkých predchádzajúcich vzoriek.

Neskôr sa zistilo, že karcinóm krčka maternice Henrietty Lacksovej bol spôsobený ľudským papilomavírusom (HPV). HPV je bežný vírus, ktorý môže okrem iných ochorení viesť k rakovine krčka maternice. Výskum na bunkách HeLa významne prispel k pochopeniu úlohy HPV pri rakovine krčka maternice, čo viedlo k vývoju preventívnych vakcín proti HPV, ktoré mali zásadný vplyv na zníženie výskytu rakoviny súvisiacej s HPV.

Tieto výnimočné bunky, označované ako "HeLa" bunky podľa iniciálok Henrietty Lacksovej, sa odvtedy stali kľúčovými v lekárskom výskume. Umožnili vedcom skúmať rast rakovinových buniek, vplyv rôznych látok a fungovanie vírusov, čím významne prispeli k pokroku v medicíne vrátane vývoja vakcín proti detskej obrne a COVID-19, a to bez etických obáv z priamych pokusov na ľuďoch.

Bunky HeLa sa široko používajú na štúdie funkcie génov, výrobu rekombinantných proteínov a génovú terapiu vďaka ich vysokej účinnosti transfekcie a náchylnosti na vírusové infekcie. Sú kľúčové pri výskume správania vírusov vrátane replikácie a patogenézy a zohrávajú kľúčovú úlohu vo výskume hepatitídy B tým, že exprimujú vírusové proteíny a pomáhajú pri vývoji diagnostických testov a vakcín, čím významne podporujú globálne zdravotné opatrenia.

Bunky HeLa sú naďalej neoceniteľným zdrojom pre prebiehajúci výskum v medicíne a vede. Význam buniek HeLa a ďalších nesmrteľných bunkových línií nemožno preceňovať, pretože naďalej formujú oblasť medicíny a výskumu infekčných chorôb a predstavujú trvalý odkaz Henrietty Lacksovej a jej prínos k vedeckému pokroku.

**Organism** Ľudské**Tissue** Cervix**Disease** Adenokarcinóm**Applications** Transfekčný hosťiteľ**Synonyms** HELA, Hela, He La, He-La, Henrietta Lacks bunky, Helacyton gartleri**Charakteristika**

**Bunky HeLa | 300194**

<b>Age</b>	30 rokov
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Afroameričan
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Regulačné údaje**

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

**Biomolekulárne údaje**

<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A
<b>Virus susceptibility</b>	Ľudský adenovírus 3, vírus encefalomyokarditídy, ľudský poliovírus 1, ľudský poliovírus 2, ľudský poliovírus 3
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatívne

**Products** Keratín, lyzofosfatidylcholín (lyzo-PC) indukuje aktivitu AP-1 a aktivitu c-jun N-terminálnej kinázy (JNK1) cestou nezávislou od proteínkinázy C

**Karyotype** Bunková línia HeLa s komplexným karyotypom s vysokým stupňom aneuploidie a štrukturálnych prestavieb je známa svojím rýchlym rastom a dlhou životnosťou v kultúre. Bunky HeLa zvyčajne vykazujú 82 chromozómov, hoci ich rozsah sa môže pohybovať od 70 do 164. Pozoruhodné je, že 98 % buniek HeLa má malý telocentrický chromozóm a 100 % buniek vykazuje aneuploidiu v značnom počte skúmaných buniek. Tieto chromozómové abnormality sú základom ich rýchleho rastu a nesmrteľnosti spolu s ich spojením s rakovinou krčka maternice a inými rakovinovými bunkami.

**Spracovanie**

**Bunky HeLa | 300194**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 28 až 36 hodín

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v množstve 2 až  $3 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilepiť sa najmenej 24 až 48 hodín.

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

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

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky HeLa | 300194

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### 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