

NATALIA ANNA HARAŃCZYK, EWA AGNIESZKA POCHEĆ

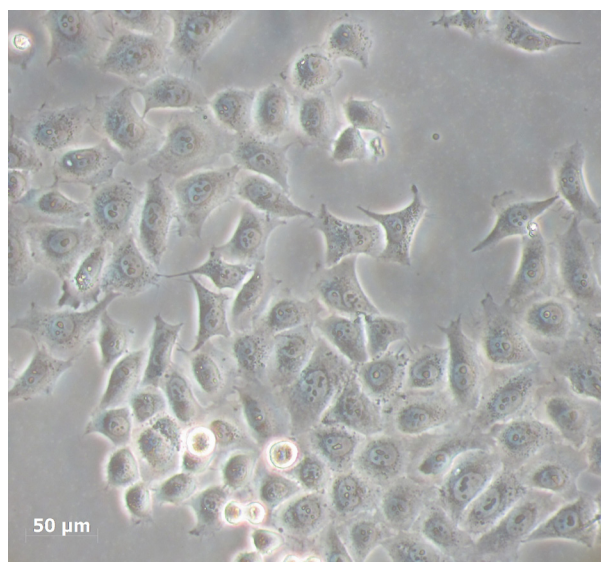
Zakład Biochemii Glikokoniugatów
Instytut Zoologii
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
E-mail: natalia.haranczyk@student.uj.edu.pl
ewa.pochec@uj.edu.pl

ODKRYCIE KOMÓREK HeLa POCZĄTKIEM REWOLUCJI W BADANIACH *IN VITRO*

WSTĘP

Poznanie struktury i funkcji komórek oraz zaburzeń stanowiących źródło chorób wymaga wielu badań. Potrzeba poddawania komórek działaniu różnych czynników w celu obserwowania zmiany ich fenotypu, doprowadziła do opracowania technik hodowli pozwalających na utrzymywanie komórek w warunkach *in vitro*. Pionierem w tej dziedzinie był Wilhelm Roux, który pod koniec XIX w. wykazał, że ogrzewany roztwór soli pozwala czasowo podtrzymać przy życiu komórki płytki nerwowej embrionu kurczęcia (OLSZEWSKA-SŁONINA i DREWA 2006). Od tego czasu wielu naukowców podejmowało próby utrzymania komórek *in vitro* dobierając odpowiednie warunki fizykochemiczne, naczynia hodowlane i pożywki. Starano się, aby sztucznie stworzone warunki były najbardziej zbliżone do środowiska *in vivo*, co pozwoliłoby hodowanym komórkom przeżyć oraz spełniać swoje funkcje (FRESHNEY 2005). Podejmowano także próby uzyskania pierwszej ludzkiej linii komórkowej, lecz zbyt krótki okres życia komórek w warunkach *in vitro* nie pozwalał na przeprowadzenie doświadczeń. Przełom nastąpił w połowie XX w., gdy George Otto Gey otrzymał próbkę guza nowotworowego szyjki macicy. Komórki tej próbki umieszczone w pożywce dzieliły się nieprzerwanie. Stały się one początkiem pierwszej ludzkiej linii komórkowej nazwa-

nej HeLa od imienia i nazwiska Henrietty Lacks (LUCEY i współaut. 2009). Obecnie, w laboratoriach na całym świecie, do badań wykorzystuje się różne sublinie pochodzące z pobranego ponad pół wieku temu wycinka. Morfologię komórek HeLa przedstawiono na Ryc. 1 na przykładzie sublinii 21-4.



Ryc. 1. Komórki HeLa sublinii 21-4 (fot. E. Pochec).

Słowa kluczowe: hodowle komórkowe, linia komórkowa HeLa, mechanizm infekcji wirusa HIV, rak szyjki macicy, szczepionka przeciw wirusowi polio

OD PRZYPADKU DO... NAUKI: HISTORIA ODKRYCIA KOMÓREK HeLa

W 1951 r. u Henrietty Lacks, pacjentki John Hopkins Hospital w Baltimore w stanie Maryland, zdiagnozowano nowotwór szyjki macicy. Wykonując biopsję, pobrano od chorej próbkę prawidłowej tkanki szyjki macicy oraz próbkę guza, a następnie przekazano je do Tissue Culture Laboratory działającego w John Hopkins Hospital. Otrzymał je George Gey, szanowany naukowiec odnoszący sukcesy w dziedzinie hodowli tkankowych, marzący o „izolacji i utrzymaniu w warunkach *in vitro* komórek prawidłowych, nowotworowych lub pochodzących z innych zmienionych chorobowo tkanek, w postaci struktur przypominających narządy lub jako linie komórkowe” (LUCEY i współaut. 2009). Warunki hodowli, szczególnie pod względem sterylności, w tamtych czasach były znacznie mniej restrykcyjne niż te, które obecnie są standardem. Jako pożywkę na początku stosowano mieszaninę osocza kurczęcia, cielecych embrionów oraz ludzkiej krwi pepowinowej (MASTERS 2002b, LUCEY i współaut. 2009). Okazało się, że komórki uzyskane z guza Henrietty Lacks dzielą się w sposób ciągły i nie obumierają. Wzbudziło to duże zainteresowanie naukowców, ponieważ dotychczasowe próby utrzymania komórek poza organizmem kończyły się niepowodzeniem po kilku dniach hodowli. Henrietta Lacks zmarła 4 października 1951 r., natomiast Gey podzielił się swoim odkryciem, najpierw z innymi laboratoriami w Stanach Zjednoczonych, a następnie z naukowcami na całym świecie (LUCEY i współaut. 2009). Dzięki temu, w ciągu 63 lat od wyprowadzenia linii HeLa, wyhodowano ponad 50 mln ton komórek Henrietty Lacks, przeprowadzono szereg badań używając HeLa jako modelu badawczego i opublikowano dziesiątki tysięcy prac naukowych. To wszystko sprawia, że HeLa są obecnie najczęściej stosowaną i „cytowaną” linią komórkową (SKLOOT 2011, LANDRY i współaut. 2013).

AGRESYWNA HeLa: PROBLEM ZANIECZYSZCZENIA KRZYŻOWEGO

Odkrycie Georga Geya sprawiło, że plany hodowania ludzkich komórek poza organizmem stały się realne. Niedługo potem możliwe było utrzymanie w warunkach *in vitro* nie tylko komórek nowotworowych, zdolnych do nieograniczonej liczby podziałów, ale również komórek prawidłowych, które w efekcie transformacji mogły się dzielić w nieskończoność. To, co przed uzyskaniem linii komórkowej HeLa wydawało się nierealnym marzeniem, zmieniło się w laboratoryjny standard.

Jednakże duży problem ówczesnych hodowli komórkowych stanowiły zanieczyszczenia krzyżowe wyprowadzonych linii. W latach 40. i 50. XX w. naukowcy tworząc nowe zwierzęce i ludzkie linie komórkowe nie znali metod pozwalających na rozróżnienie komórek z różnych tkanek oraz gatunków, co prowadziło do mieszania komórek między liniami. Szczególnym problemem było zanieczyszczenie innych linii szybko proliferującymi komórkami HeLa, ponieważ w ciągu kilku pasażów mogą one zdominować i doprowadzić do całkowitego zaniku wolniej rosnące komórki linii wyjściowej (MASTERS 2002a). Zanieczyszczenia krzyżowe sprawiły, że wiarygodność wyników badań prowadzonych w warunkach *in vitro* była niekiedy kwestionowana. Rozwiązaniem tego problemu było odkrycie Stanleya Gartlera, który w 1962 r. wysunął koncepcję biochemicznego polimorfizmu. Koncepcja zakładała, że to samo białko, np. enzym, może występować w obrębie danego organizmu w różnych formach zwanych izoenzymami (MASTERS 2002b), które różnią się sekwencją aminokwasową, ale katalizują tę samą reakcję (BERG i współaut. 2005). Różnice w ruchliwości elektroforetycznej wynikające z różnej masy cząsteczkowej izoenzymów, których ekspresja jest tkankowo i komórkowo specyficzna, umożliwiają identyfikację komórek danej linii (MCKENZIE i HENDERSON 1983, NIMS i współaut. 1998). Stanley Gartler weryfikował autentyczność osiemnastu ludzkich linii komórkowych pochodzących m.in. z Amerykańskiego Banku Linii Komórkowych (ATCC, ang. American Type Culture Collection). Analizując ekspresję izoform A i B dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu (G6PD) metodą elektroforetyczną (YOSHIDA i współaut. 1971, MASTERS 2002b) stwierdził, że badane linie są zanieczyszczone komórkami HeLa (LUCEY i współaut. 2009, MASTERS 2010). Zmusiło to naukowców do poszukiwania innych metod oceny czystości linii komórkowych. Z czasem do tego celu wprowadzono metodę kariotypowania (LUCEY i współaut. 2009), pozwalającą na analizę liczby i struktury chromosomów. Wykorzystanie odkrycia Gartlera do oceny zanieczyszczeń innych linii komórkami HeLa wywołało gorącą dyskusję w środowisku naukowców. Wyniki badań uzyskane na zanieczyszczonych krzyżowo liniach były podważane. W latach 70. XX w. okazało się, że badania prowadzone przez biologa Waltera Nelson-Reesa na 20 liniach, uznanych dotąd za czyste, są bezwartościowe, ponieważ wszystkie posiadały markery komórek linii HeLa (MASTERS 2010). Obecnie dostępne są proste i stosunkowo tanie metody wykrycia zanieczyszczenia krzyżowego, które niwelując ten problem, zapewniają wiarygodność wyni-

ków (NARDONE 2007). Szczegółowa wiedza na temat genomu linii HeLa znajduje zastosowanie w precyzyjnej identyfikacji tych komórek, m.in. w celu weryfikacji zanieczyszczenia innych linii.

KATASTROFY WIODĄ DO NIEŚMIERTELNOŚCI: GENOM KOMÓREK HeLa

Od momentu wyprowadzenia linii HeLa przez Georga Geya zadawano sobie pytanie, co sprawiło, że komórki te dzielą się ciągle i nie obumierają. W celu rozwiązania tej zagadki przeprowadzono wiele badań, które wykazały, że komórki HeLa są aneuploidalne (ADEY i współaut. 2013), podobnie, jak inne komórki nowotworowe (SEN 2000). Grupa naukowców pod przewodnictwem Larsa Steinmetza, genetyka z Europejskiego Laboratorium Biologii Molekularnej w Heidelbergu, zsekwencjonowała w 2013 r. jedną z sublinii komórek HeLa-Kyoto i porównała ją z sekwencją genomu ludzkich komórek prawidłowych (LANDRY i współaut. 2013). Analiza wyników ujawniła zmiany w liczbie i strukturze chromosomów. Komórki sublinii Kyoto zawierają nawet do pięciu dodatkowych kopii chromosomów, liczne regiony chromosomów HeLa posiadają od czterech do sześciu kopii danego genu, a większe fragmenty mają silnie zmieniony układ genów w porównaniu do komórek prawidłowych, co dotyczy szczególnie chromosomu 11 (CALLAWAY 2013). Zbadano szczegółowo liczbę delecji, inwersji, powtórzeń tandemowych, translokacji, LNV (ang. large nuclear variants) oraz SNV (ang. small nuclear variants). Badania wykazały, że poziom ekspresji blisko 2000 genów jest wyższy w HeLa niż w ludzkich komórkach prawidłowych pochodzących z 16 różnych tkanek. Zmiany dotyczą głównie rejonów chromosomów zawierających geny kodujące białka cyklu komórkowego oraz białka związane z naprawą DNA (LANDRY i współaut. 2013).

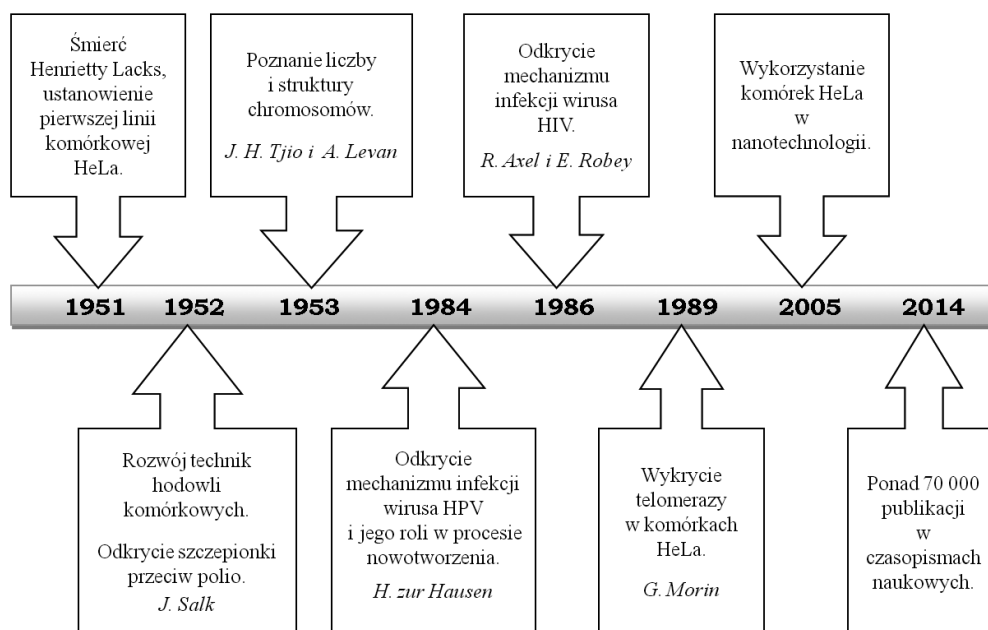
Szczególnym zjawiskiem obserwowanym głównie w chromosomie 11 oraz 5, 19 i X komórek HeLa są katastrofy chromosomalne (ang. chromothripsis) (LANDRY i współaut. 2013). Zjawisko to opisał po raz pierwszy w 2011 r. STEPHENS i współaut. w komórkach przewlekłej białaczki limfocytowej (ang. chronic lymphocytic leukemia, CLL) oraz dwóch typów nowotworu kości: kostniakomięsaka (ang. osteosarcoma) i struniaka (ang. chordoma). Katastrofa chromosomalna polega na rozerwaniu chromosomu wskutek nagromadzenia się wielu zmian materiału genetycznego podczas transformacji nowotworowej, m.in. mutacji punktowych, delecji, duplikacji, translokacji i inwersji (ZHANG i współaut.

2013). Cechą charakterystyczną tego zjawiska jest powstanie kilkudziesięciu do kilkuset fragmentów DNA, które komórka składa w sposób przypadkowy, prowadzący do licznych przegrupowań genomu i utraty niektórych fragmentów chromosomu (FORMENT i współaut. 2012, KORBEL i CAMPBELL 2013). Badania wykazały, że katastrofy chromosomalne mają miejsce w 2-3% wszystkich nowotworów i są szczególnie częste w nowotworach kości (STEPHENS i współaut. 2011, GOVIND i współaut. 2014). Przypuszcza się, że katastrofy chromosomalne oraz utrata heterozygotyczności (ang. loss of heterozygosity, LOH) na chromosomie 11 przyczyniły się do rozwoju raka szyjki macicy u Henrietty Lacks (MAHER i WILSON 2012, LANDRY i współaut. 2013). Inna teoria zakłada, że katastrofy chromosomalne są efektem długotrwałego hodowania komórek HeLa w warunkach *in vitro* (LANDRY i współaut. 2013).

Autorzy publikacji, w której zamieszczono wyniki zsekwencjonowania genomu HeLa podkreślają, że charakteryzowanie genomów linii komórkowych na szerszą skalę jest niezwykle istotne, szczególnie w przypadku komórek o tak wysokiej niestabilności genomowej jak HeLa, co zapewni wiarygodność badań na nich prowadzonych i umożliwi interpretację uzyskanych wyników w oparciu o dane genetyczne (STEPHENS i współaut. 2011, LANDRY i współaut. 2013). Niektórzy naukowcy uważają, że tak duża liczba zmian w genomie komórek HeLa daje podstawę do traktowania kolejnych sublinii, jako nowych gatunków. Amerykański biolog ewolucyjny Leigh Maiorana van Valen wysunął hipotezę, że po tylu podziałach komórkowych, zachodzących przez lata w warunkach *in vitro*, nie ma już komórek HeLa *Homo sapiens*, ponieważ zaszło zbyt wiele zmian w genomie i powstał nowy gatunek, który nazwał *Helacyton gartleri*. Jednak większość naukowców nie uznaje tego gatunku, ponieważ są zgodni, że ewolucja zachodząca *in vitro* nie ma większego znaczenia w przyrodzie i świecie nauki (SKLOOT 2011).

NIEMOŻLIWE STAJE SIĘ MOŻLIWE: HeLa W BADANIACH PODSTAWOWYCH I MEDYCYNIE

Ustanowienie pierwszej linii komórkowej HeLa zapoczątkowało rewolucję w badaniach *in vitro*. Komórki te okazały się być bardzo dobrym materiałem badawczym. Szybkie tempo wzrostu zapewniało szeroką dostępność komórek HeLa, umożliwiło ogromny postęp w badaniach medycznych oraz przyczyniło się do ulepszenia i wystandardyzowania technik laboratoryjnych stosowanych w hodowli komórek. Użycie komórek HeLa do



Ryc. 2. Chronologia najważniejszych odkryć przeprowadzonych z użyciem pierwszej ludzkiej linii komórkowej HeLa.

badania pozwoliło odpowiedzieć na wiele podstawowych pytań koniecznych, by zrobić następny krok w drodze do zrozumienia jak funkcjonują komórki, tkanki i całe organizmy. Łatwość ich namnożenia *in vitro* obniżyła znacznie koszty badań. To one były modelem badawczym, na którym opracowano techniki zamrażania komórek, niezbędne w okresie, kiedy nie prowadzi się badań (SKLOOT 2011).

Obecnie komórki HeLa są najczęściej używaną linią w badaniach naukowych; szacuje się, że opublikowano ponad 70 000 publikacji, w których stanowiły model badawczy (LANDRY i współaut. 2013). Zastosowanie linii HeLa pozwoliło na opracowanie szczepionki przeciw wirusowi polio, opisanie mechanizmu infekcji wirusa HIV i roli wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) w powstawaniu nowotworów, zrozumienie procesu programowanej śmierci komórki oraz wielu innych zjawisk zachodzących na poziomie genów (Ryc. 2).

OPRACOWANIE SZCZEPIONKI PRZECIWIW POLIO

Jednym z pierwszych i najważniejszych osiągnięć nauki, możliwym dzięki zastosowaniu linii HeLa, było opracowanie szczepionki przeciw wirusowi polio. *Poliomyelitis*, zwana również chorobą Heinego-Medina, to choroba zakaźna wywoływana przez wirusa polio. Ponieważ przebieg zakażenia często jest bezobjawowy, wirus przenosi się drogą kropelkową i pokarmową, a z organizmu jest wydalany w ciągu dwóch miesięcy od zakażenia, dlatego łatwo się rozprzestrzenia. W najcięż-

szej postaci wywołuje trwale niedowłady rąk lub nóg oraz porażenia całych grup mięśni, stąd inna nazwa choroby, nagminne porażenie dziecięce. Do tej pory brak jest leków działających swoiście wobec wirusa polio, możliwe jest jedynie leczenie łagodzące objawy chorobowe. Z tych powodów profilaktyczne szczepienie dzieci ma kluczowe znaczenie (MAGDZIK i współaut. 2007).

Pod koniec 1951 r. liczba przypadków tej choroby na świecie była największa w historii. Dotknęła wiele bogatych krajów Europy i Ameryki. Epidemii choroby Heinego-Medina udało się opanować dopiero w 1955 r. po opracowaniu przez Jonasa Salka skutecznej szczepionki. Podanie jej pozwala na wcześniejszą immunizację, dzięki czemu podczas pierwszego kontaktu z wirusem, organizm jest przygotowany do jego zwalczania. Jonas Salk rozpoczął badania nad wirusem polio w 1948 r. Opracował szczepionkę IPV (ang. inactivated polio vaccine) zawierającą cząsteczki wirusa typu 1, 2, 3 poddane działaniu formaliny, która inaktywuje wirusa, ale nie niszczy jego właściwości antygenowych. Początkowo niemożliwe było jednak przeprowadzenie testów skuteczności szczepionki na szeroką skalę. Umożliwiło to dopiero użycie komórek HeLa, które okazały się być świetnym materiałem do testowania szczepionek. Badania rozpoczęto od zaszczepienia kilku tysięcy dzieci. Następnie pobrano od nich krew i dodano do komórek HeLa *in vitro* (SKLOOT 2011). Okazało się, że komórki HeLa hodowane z krwią zaszczepionych dzieci były odporne na infekcję wirusem po-

lio, co potwierdziło skuteczność szczepionki (SCHERER i współaut. 1953). Stosowanie szczepionki przyczyniło się do wielokrotnego zmniejszenia liczby zachorowań na chorobę Heinego-Medina, zwłaszcza w Europie, Ameryce, Japonii i Australii. W niektórych krajach choroba ta została całkowicie wyeliminowana (EHRENFELD i współaut. 2009). Od 1988 r. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) koordynuje program szczepień, którego celem jest całkowite zwalczenie wirusa polio (MAGDZIK i współaut. 2007). W badaniach nad wirusem polio duże zasługi ma również wybitny polski naukowiec, prof. Hilary Koprowski, który jako pierwszy w 1948 r. opracował skuteczną, doustną szczepionkę przeciw temu wirusowi (ang. oral polio vaccine, OPV). Modele badawcze Koprowskiego i Salka przy opracowaniu szczepionki były odmienne, Koprowski w przeciwieństwie do Salka, wykorzystał do tego celu szczury (CROCE 2013, WADMAN 2013).

ODKRYCIE ROLI WIRUSA BRODAWCZAKA LUDZKIEGO W PROCESIE NOWOTWORZENIA

Rak szyjki macicy jest trzecim najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet (SHERRIS i współaut. 2001; dane Światowej Organizacji Zdrowia, WHO z dn. 6.03.2015: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx). Zmiany nowotworowe w tkankach narządów płciowych i odbytu mogą być wynikiem zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (ang. human papilloma virus, HPV). Potencjał onkogeny niektórych typów wirusa HPV wynika z działania w komórkach gospodarza onkoprotein E6 i E7 o właściwościach transformujących. Powodują one zakłócenia w szlakach supresorowych guza oraz są niezbędne do proliferacji komórek raka szyjki macicy. W 99% tych komórek stwierdza się obecność obu tych onkoprotein (MAJEWSKI i współaut. 2005).

W latach 70. ubiegłego wieku Harald zur Hausen opisał rolę wirusa HPV w procesie nowotworzenia, za co w 2008 r. otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny. Komórki HeLa odegrały niezwykle istotną rolę w badaniach nad wirusem HPV. Zur Hausen badał DNA komórek różnych linii, m.in. komórek HeLa, na obecność fragmentów genomu wirusa brodawczaka HPV18. Uzyskawszy wynik dodatni dla komórek HeLa uznał za konieczne, by test na obecność wirusa przeprowadzić również w próbce biopsji pobranej od Henrietty Lacks ponad trzydzieści lat wcześniej w John Hopkins Hospital, w celu wykluczenia zakażenia samej linii HeLa w trakcie hodowli *in vitro*. Komórki z pierwotnej próbki dały również wynik pozytywny, co wykazało, że Henrietta

Lacks była zarażona wirusem HPV. Kolejne badania zespołu zur Hausena pozwoliły na zbadanie przebiegu infekcji wirusa HPV oraz opracowanie skutecznej szczepionki przeciw wirusowi brodawczaka w 2004 r. (HAUSEN 2002, MCINTYRE 2005, SKLOOT 2011). Zmniejszenie zachorowalności na raka szyjki macicy wywołanego wirusem HPV to efekt profilaktyki, na którą, oprócz badań cytologicznych, składają się szczepienia ochronne. Postęp, jaki dokonał się w badaniach nad tym wirusem i etiologią raka szyjki macicy, nie byłby możliwy bez pierwszych doświadczeń na komórkach HeLa (LOWY i SCHILLER 1998).

OPISANIE MECHANIZMU INFЕКCJI WIRUSA HIV

Kolejnym, niezwykle istotnym odkryciem, które zawdzięczamy komórkom HeLa, było poznanie mechanizmu infekcji wirusa HIV (ang. human immunodeficiency virus), jego biologii, jak również badanie dynamiki replikacji materiału genetycznego wirusa w określonym przedziale czasowym. Wirus HIV, powodujący zespół nabytego niedoboru odporności AIDS (ang. acquired immunodeficiency syndrome), infekuje limfocyty T CD4, zaangażowane w odpowiedź immunologiczną i powoduje ich śmierć (ALIMONTI i współaut. 2003). W 1990 r., po wybuchu epidemii AIDS, Richard Axel i Ellen Robey zbadali przebieg infekcji wirusem HIV u ludzi. Ponieważ wirus HIV infekuje jedynie komórki krwi, do genomu komórek HeLa wprowadzono gen kodujący receptor CD4, co pozwoliło na zainfekowanie HeLa wirusem HIV (KOST i współaut. 1991, SKLOOT 2011). Dzięki tym doświadczeniom potwierdzono, że białko CD4 na powierzchni limfocytów T jest receptorem dla glikoproteiny wirusa gp120 i tym samym umożliwia wirusowi wnikięcie do komórki (KOST i współaut. 1991). Śmierć zakażonych wirusem HIV komórek jest wynikiem aktywowania szlaków apoptotycznych lub też skutkiem wytworzenia krótko żyjących syncytiów (ALIMONTI i współaut. 2003). Poznanie mechanizmu infekcji wirusem HIV pozwoliło na opracowanie terapii dla osób chorych na AIDS, polegającej na zahamowaniu replikacji wirusa oraz odtworzeniu zniszczonego układu odpornościowego. Uzyskana wiedza zmieniła dotychczasowy pogląd na temat tego, w jaki sposób może dojść do zakażenia tym wirusem i rozwoju choroby AIDS.

BADANIA NAD NIEŚMIERTELNOŚCIĄ KOMÓREK

W latach 60. XX wieku Leonard Hayflick określił maksymalną liczbę podziałów prawidłowej ludzkiej komórki, zwaną limitem Hayflicka. Po przekroczeniu pewnej liczby podziałów komórka umiera (SHAY i WRIGHT 2000). W przeciwieństwie do komórek prawi-

dłowych, nowotworowe komórki HeLa dzielą się nieprzerwanie, dlatego stały się interesującym obiektem do badań mających na celu wyjaśnienie przyczyny nieśmiertelności komórek. Naukowcy zaobserwowali, że jedynie komórki transformowane przez wirusy lub poprzez mutacje genetyczne, takie jak HeLa, mogą dzielić się w nieskończoność (SKLOOT 2011). Komórki somatyczne Eucaryota posiadają na końcach chromosomów specjalne sekwencje nukleotydowe bogate w tyminę i guaninę, wchodzące w skład struktur nazwanych telomerami. Pozwalają one na dokończenie syntezy DNA oraz chronią końce chromosomów (KAZANOWSKA i współaut. 2003). Sekwencje te są wynikiem działania enzymu, telomerazy. Prawidłowe komórki starzeją się, ponieważ skracają się ich telomery, natomiast komórki, w których aktywność telomerazy jest wysoka, mają zachowaną długość telomerów, co opóźnia ich starzenie (BERG i współaut. 2005). W końcu ubiegłego wieku MORIN (1989) wykazał, że wysoka aktywność telomerazy w komórkach HeLa jest przyczyną ich nieograniczonej proliferacji. Obecnie szacuje się, że ok. 85% komórek nowotworowych posiada aktywną telomerazę, która powoduje ich nieśmiertelność (MEYERSON 2000, KAZANOWSKA i współaut. 2003). Odkrycie telomerów i telomerazy oraz zbadanie ich roli w podziałach komórkowych przez Elizabeth Blackburn, Carol Greider i Jacka Szostaka zostało nagrodzone w 2009 r. Nagrodą Nobla (ABBOT 2009). Zrozumienie funkcjonowania telomerazy odgrywa ważną rolę w badaniach nad rozwojem nowotworów i starzeniem się komórek.

KOMÓRKI HeLa W BADANIACH NAD APOPTOZĄ

Programowana śmierć komórki zwana apoptozą, jest naturalnym mechanizmem obronnym organizmów wielokomórkowych. W tym wieloetapowym procesie niszczone są komórki zużyte lub posiadające uszkodzony materiał genetyczny. Proces apoptozy indukowany jest przez czynniki pochodzące z zewnątrz lub wewnątrz komórki. Proapoptotyczne działania wykazują m.in.: promieniowanie jonizujące, czynnik martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor, TNF α), wolne rodniki. Głównym celem nowoczesnych terapii przeciwnowotworowych jest uruchomienie mechanizmów prowadzących do apoptozy komórek nowotworowych (Chwiłkowska i współaut. 2011). Dokładne poznanie tego procesu możliwe było m.in. dzięki komórkom HeLa, które posłużyły do testowania i wyboru substancji proapoptotycznych i wykorzystania ich w leczeniu przeciwnowotworowym. Modyfikowanie tego procesu zmierza do opracowywania nowych metod wykorzystania apoptozy w leczeniu

różnych chorób, poprzez stworzenie jeszcze skuteczniejszych leków (Renehan i współaut. 2001). Indukowanie apoptozy w komórkach HeLa ma zastosowanie w badaniach nad terapią fotodynamiczną (ang. photodynamic therapy, PDT). Wymaga ona użycia trzech składników: fotouczulacza, tlenu oraz źródła emitującego światło o długości fali odpowiedniej dla użytego barwnika. Stosowana do leczenia raka, wymaga ekspozycji komórek lub tkanek na działalność fotouczulającego leku, a następnie światła widzialnego o odpowiedniej długości fali. Komórki HeLa poddane terapii PDT ulegały apoptozie przy zastosowaniu benzoporfiryny, jako fotouczulacza. W efekcie tej terapii obserwowano degradację błon mitochondriów i uwalnianie dużych ilości cytochromu c (CASTROPAZOS de i współaut. 2003). Obecnie z terapią fotodynamiczną wiąże się duże nadzieje w walce z rakiem. Skuteczne jej zastosowanie, minimalizujące skutki uboczne, wymaga zastosowania fotouczulacza, który będzie wiązał się selektywnie z tkanką nowotworową (Chwiłkowska i współaut. 2011). Istotne jest również dobranie właściwych warunków fizycznych, głównie odpowiedniej dawki światła. Tego typu badania biofizyczne również przeprowadzane są z udziałem komórek HeLa (ZAREBSKI i współaut. 2014).

Kolejne badania z użyciem komórek HeLa transfekowanych DNA kodującym białko p53 pozwoliły na opisanie mechanizmu zahamowania wzrostu nowotworu związanego z proapoptotyczną aktywnością tego białka (HAUPT i współaut. 1997). Białko p53, nazywane strażnikiem genomu, to czynnik transkrypcyjny, którego ekspresja jest aktywowana m.in. przez stres oksydacyjny i zmiany onkogenne. Prowadzi to do zatrzymania wzrostu lub wywołuje apoptozę nieprawidłowej komórki. Wykazano, że wiele komórek nowotworowych posiada mutację w genie kodującym białko p53. Komórki takie trudno ulegają apoptozie i są odporne na leczenie przeciwnowotworowe (HAUPT i współaut. 1997, SZNARKOWSKA i współaut. 2010). Komórki HeLa należą do tej grupy nowotworów, które nie posiadają białka p53, mimo obecności mRNA dla p53 (MATLASHEWSKI i współaut. 1986), ponieważ białko jest inaktywowane przez onkoproteinę E6 kodowaną przez genom ludzkiego wirusa brodawczaka HPV wbudowanego w materiał genetyczny HeLa (MAY i współaut. 1991). Przeprowadzono wiele badań nad indukowaną apoptozą w komórkach HeLa, stosując m.in. nadtlenek wodoru, który aktywuje szlak mitochondrialny apoptozy bez obecności p53 (SINGH i współaut. 2007). Ponadto, wywołano śmierć komórek HeLa przez działanie ekstraktów roślinnych, mających działanie

proapoptotyczne, m.in. ekstraktów roślin z rodzaju *Piper* (WIDOWATI i współaut. 2013). Naświetlanie komórek HeLa promieniami UV wykazało, że indukuje ono apoptozę przez bezpośrednie aktywowanie białek proapoptotycznych (KAMARAJAN i CHAO 2000).

Wykorzystanie komórek HeLa w badaniach nad apoptozą pozwoliło naukowcom zbliżyć się do pełnego zrozumienia mechanizmu tego procesu. Dzięki doświadczeniom na komórkach HeLa zidentyfikowano substancje oraz opisano mechanizmy wywołujące apoptozę. Celem wielu badań obecnie prowadzonych nad tym zagadnieniem jest poszukiwanie nowych sposobów indukcji apoptozy, precyzyjnie ukierunkowanych na komórki nowotworowe i możliwych do zastosowania w leczeniu przeciwnowotworowym.

INNE BADANIA PROWADZONE NA KOMÓRKACH HeLa

Opracowanie zaawansowanych technik prowadzących do klonowania wielokomórkowych organizmów również zawdzięczamy w pewnym stopniu komórkom HeLa. Wykorzystano je bowiem w 1965 r. do stworzenia pierwszej genetycznej hybrydy międzygatunkowej. Była to fuzja mysich komórek wodobrzusza Ehrlicha (ang. Ehrlich ascites tumour cells) oraz komórek HeLa. Przyczyniło się to do rozwoju techniki mapowania genów, pozwalającej na określenie położenia poszczególnych genów w chromosomie oraz ocenę odległości, w jakiej znajdują się względem siebie. Mapowanie genów umożliwiło lepsze poznanie chorób genetycznych, rozwój diagnostyki prenatalnej i określanie ryzyka wystąpienia choroby (HARRIS i WATKINS 1965, SKLOOT 2011). Komórki HeLa umożliwiły rozwój badań cytogenetycznych. Dzięki nim określono liczbę ludzkich chromosomów. Przez długi czas, na podstawie badań Theophiliusa Painter'a z 1923 r., sądzono, że ludzkie komórki posiadają 48 chromosomów. Dopiero badania Joe Hin Tjio i Alberta Levan z 1956 r. pozwoliły na poprawną identyfikację zestawu 46 chromosomów w komórce ludzkiej (GARTLER 2006). Poznanie liczby chromosomów i ich struktury umożliwiło późniejsze badanie aberracji chromosomowych oraz chorób genetycznych z nimi związanych, takich jak zespół Klinefeltera, zespół Downa oraz zespół Turnera (SKLOOT 2011). Komórki HeLa eksponowano także na działanie szkodliwych czynników zewnętrznych, m.in. różnego rodzaju promieniowania, aby lepiej zrozumieć, jakie skutki na poziomie genów i białek może przynieść radiacja komórek ludzkich (KANNO i współaut. 1965). Badano je nawet pod kątem wytrzymałości na ciśnienie zewnętrzne i jego skutki.

Bez wątplenia HeLa są najczęściej stosowaną linią komórkową w eksperymentach *in vitro*. Zakres badań jaki na nich przeprowadzono jest bardzo szeroki, począwszy od opisanych powyżej, które stanowią fundamenty dzisiejszej wiedzy biologicznej, a skończywszy na próbach określenia, jaki wpływ na komórki ludzkie mają podróże kosmiczne. Komórki te odbyły w 1960 r. podróż w ramach rosyjskich misji kosmicznej, a niedługo potem również NASA wysłało w kosmos własną próbkę HeLa na pokładzie amerykańskiego wahadłowca Discovery. Uzyskane wyniki badań wskazywały, że komórki HeLa w przestrzeni kosmicznej dzielą się szybciej (SKLOOT 2011), lecz kolejne wyniki nie potwierdzają tych obserwacji. Od wielu lat komórki HeLa zastępują testy na zwierzętach w badaniach bezpieczeństwa i toksyczności kosmetyków oraz licznych leków (EWALL 1980). W XXI w. linia HeLa stała się materiałem do badań w nanotechnologii. W 2005 r. przeprowadzono eksperymenty pozwalające na ocenę pochłaniania nano-cząsteczek krzemionkowych przez komórki HeLa (XING i współaut. 2005), a w 2013 r. wprowadzono do nich krzemionkowe chipy, które pozwoliły na zbadanie zmian ciśnienia wewnętrznego w żywych komórkach (GOMEZ-MARTINEZ i współaut. 2013).

KOMÓRKI HeLa W OGNIU DYSKUSJI: ASPEKTY ETYCZNE

Wokół linii HeLa istnieje wiele kontrowersji związanych ze stroną etyczną wykorzystania do badań na szeroką skalę komórek pacjentki bez jej zgody. Chociaż próbka biopsji Henrietty Lacks została pobrana i wykorzystana bez wiedzy i zgody rodziny Lacks, to George Gey, dzieląc się swoim sukcesem i wysyłając komórki do różnych laboratoriów, robił to nie z chęci zysku, lecz dla dobra i rozwoju nauki. Z biegiem czasu zapotrzebowanie na komórki HeLa stało się na tyle duże, że zaczęto je produkować masowo i sprzedawać, a dla zapewnienia anonimowości Henrietty Lacks rozwinięciem skrótu HeLa tłumaczono, jako Helen Lane (LANDRY i współaut. 2013). Rodzina Lacks nie wiedziała przez ponad 20 lat o tym, że komórki Henrietty są masowo produkowane, sprzedawane i wykorzystywane w laboratoriach na całym świecie. W momencie opublikowania sekwencji genomu komórek HeLa w marcu 2013 r. rodzina Lacks zaprotestowała przeciwko upublicznieniu wyników. Rodzina sprzeciwiła się temu, ponieważ jak sądzono, byłoby to upublicznienie części ich genomu i umożliwiłoby poznanie biologii rodziny Lacks. Dostęp do danych o genomie komórek HeLa nie był możliwy aż

do 7 sierpnia 2013 r., gdy rodzina Lacks wyraziła zgodę na udostępnienie ich w wyjątkowych przypadkach za zgodą komisji, w której reprezentowani będą również członkowie rodziny. Każdy naukowiec publikujący badania, w których wykorzystał dane o genomie komórek HeLa, został zobowiązany do zamieszczenia informacji o rodzinie Lacks. Niektórzy jej członkowie wnosili roszczenia finansowe odnośnie wykorzystywania komórek ich krewnej, ponieważ zyski z badań na komórkach HeLa liczone są w miliardach dolarów, a nawet podejmowali próbę opatentowania sekwencji jej genomu. Sąd Najwyższy USA oddalił te roszczenia wskazując, że niemodyfikowane geny nie mogą być opatentowane. Mimo roszczeń finansowych rodziny Lacks wynikającej ze świadomości czerpania gigantycznych zysków ze sprzedaży komórek HeLa, rodzina nie uzyskała rekompensaty także ze strony Narodowego Instytutu Zdrowia w USA (ang. National Institutes of Health, NIH). W porozumieniu zawartym z NIH, rodzina Lacks otrzymała jedynie moralną rekompensatę za wszystkie lata nieświadomości, że bez ich wiedzy wykorzystywano komórki ich bliskiej (SKLOOT 2011, CALLAWAY 2013). Szeroko dyskutuje się, czy pobranie podczas zabiegu materiału do badań od pacjenta bez jego zgody ma moralne uzasadnienie. Zwolennicy takiego postępowania argumentują, że badania wykonane na komórkach HeLa mogą przynieść korzyści wszystkim ludziom. Sporna jest również kwestia podziału zysków czerpanych z badań prowadzonych na materiale klinicznym. Rodzi się pytanie, kto ma do nich prawo? Czy tylko naukowiec, który sprawił, że badanie przeprowadzone na materiale pacjenta stało się dochodowe, czy również pacjent, od którego pobrano tkankę? Z pewnością wszystkie kwestie etyczne i finansowe tego problemu wymagają przyjęcia jasnych uregulowań prawnych.

PODZIĘKOWANIE

Sublinię 21-4 komórek HeLa pozyskano dzięki uprzejmości prof. dra hab. Jerzego Dobruckiego oraz dr Agnieszki Waligórskiej z Pracowni Biofizyki Komórki Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Streszczenie

Historia hodowli komórkowych sięga końca XIX w., kiedy Wilhelm Roux utrzymując płytkę nerwową embrionu kurczęcia w ogrzewanym roztworze soli, ustanowił zasady hodowli komórkowej. Od tego czasu naukowcy próbowali hodować komórki poza organizmem, by stworzyć model pozwalający na usprawnienie badań naukowych. Od początku panowało przekonanie, że hodowanie komórek *in vitro* pozwoli znaleźć odpowiedzi na wiele pytań dotyczących struktury i biologii komórek.

Linie pierwszych ludzkich komórek uzyskano w 1951 roku z komórek pobranych z biopsji raka szyjki macicy Henrietty Lacks, która kilka miesięcy później zmarła z powodu tego nowotworu. Twórcą pierwszej linii komórkowej, nazwanej HeLa od imienia i nazwiska pacjentki, był George Gey, pracownik Johns Hopkins Hospital w Baltimore. Obecnie komórki HeLa są jedną z najczęściej stosowanych linii komórkowych w badaniach naukowych. Komórki HeLa dzielą się szybko i są wyjątkowo agresywne. Analiza genomu HeLa potwierdza szczególny charakter tych komórek wynikający z licznych zaburzeń w liczbie i strukturze chromosomów oraz ze zmian w ekspresji genów odpowiedzialnych za szlaki metaboliczne związane z naprawą DNA oraz z cyklem komórkowym. Opublikowano dotychczas ponad 70 tysięcy artykułów naukowych, do których wykorzystano komórki HeLa. W laboratoriach na całym świecie znajduje się ponad 50 mln ton komórek tej linii. Dzięki wprowadzeniu linii HeLa możliwe stało się opracowanie technik przechowywania i hodowli komórek oraz przeprowadzenie wielu istotnych badań, takich jak opracowanie szczepionki przeciw polio i poznanie mechanizmu infekcji wirusa HIV. Określenie znaczenia wirusa brodawczaka ludzkiego HPV w procesie nowotworzenia przez Haraldą zur Hausen w 2008 r. oraz odkrycie telomerazy przez Elizabeth Blackburn, Carol Greider i Jacka Szostaka w 2011 r. przyniosły dwie Nagrody Nobla. Bez wątpienia komórki HeLa przyczyniły się znacząco do rozwoju nauki, obniżyły koszty wielu eksperymentów oraz umożliwiły wielokrotne ich powtarzanie.

LITERATURA

- ABBOT A., 2009. *Chromosome protection scoops Nobel*. Nature 461, 706-707.
- ADEY A., BURTON J. N., KITZMAN J. O., HIATT J. B., LEWIS A. P., MARTIN B. K., QIU R., LEE C., SHENDURE J., 2013. *The haplotype-resolved genome and epigenome of the aneuploid HeLa cancer cell line*. Nature 500, 207-211.
- ALIMONTI J. B., BALL B., FOWKE K. R., 2003. *Mechanisms of CD4+ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS*. J. Gen. Virol. 84, 1649-1661.
- BERG J. M., TYMOCZKO J. L., STRYER L., 2005. *Biochemia*, PWN, Warszawa.
- CALLAWAY E., 2013. *Deal done over HeLa cells line*. Nature 500, 132-133.
- CASTROPAZOS DE M., PACHECO-SOARES C., SOARES DA SILVA N., DAMATTA R. A., PACHECO M. T. T., 2003. *Ultrastructural effects of two phthalocyanines in CHO-K1 and HeLa cells after laser irradiation*. Biocell 27, 301-309.
- CHWILKOWSKA A., KULBACKA J., SACZKO J., 2011. *Śmierć komórek nowotworowych. Udział reakcji fotodynamicznej w indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych*. Pol. Merk. 175, 45-48.
- CROCE C. M., 2013. *Hilary Koprowski (1916-2013): Vaccine pioneer, art lover, and scientific leader*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 110, 8757.
- EHRENFELD E., MODLIN J., CHUMAKOV K., 2009. *Future of polio vaccines*. Expert. Rev. Vaccines 7, 899-905.
- EWALL B., 1980. *Toxicity to HeLa cell of 205 drugs as determined inhibition test supplemented by microscopy*. Toxicology 17, 273-295.
- FRESHNEY R. I., 2005. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 5th ed.* Wiley-Liss, Hoboken, New York.

- FORMENT J. V., ABDERRAHMANE K., JACKSON S. P., 2012. *Chromothripsis and cancer: causes and consequences of chromosome shattering*. Nat. Rev. Cancer 12, 663-670.
- GARTLER S. M., 2006. *The chromosome number in humans: a brief history*, Nat. Rev. Genet. 7, 655-660.
- GOMEZ-MARTINEZ R., HERNANDEZ-PINTO A. M., DUCH M., VAZQUEZ P., ZINOVIEV K., DE LA ROSA E. J., ESTEVE J., SUAREZ T., PLAZA J. A., 2013. *Silicon chips detect intracellular pressure changes in living cells*. Nat. Nanotechnol. 8, 517-521.
- GOVIND S. K., ZIA A., HENNINGS-YEOMANS P. H., WATSON J. D., FRASER M., ANGHEL C., WYATT A. W., VAN DER KWAST T., COLLINS C. C., MCPHERSON J. D., BRISTOW R. G., BOUTROS P. C., 2014. *ShatterProof: operational detection and quantification of chromothripsis*. BMC Bioinformatics 15, 78.
- HARRIS H., WATKINS J. F., 1965. *Mitosis in hybrid cells derived from mouse and man*. Nature 207, 606-608.
- HAUPT Y., ROWAN S., SHAULIAN E., KAZAZ A., VAUSDEN K., OREN M., 1997. *p53 mediated apoptosis in HeLa cells: transcription dependent and independent mechanisms*. Leukemia 3, 337-339.
- HAUSEN ZUR H., 2002. *Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application*. Nat. Rev. Cancer 3, 342-350.
- KAMARAJAN P., CHAO C. C., 2000. *UV-induced apoptosis in resistant HeLa cells*. Biosci. Rep. 2, 99-108.
- KANNO I., FUKUSHI K., YAMAGUCHI J., UTAGAWA K., UMEHARA E., 1965. *Effects of x-ray radiation on HeLa cells*. J. Radiat. Res. 6, 82-95.
- KAZANOWSKA B., MIKOŁAJEWSKA A., REICH A., REICH M., CHYBICKA A., 2003. *Telomery i aktywność telomerazy w komórkach prawidłowych oraz w komórkach nowotworowych*. Adv. Clin. Exp. Med. 12, 87-95.
- KORBEL J. O., CAMPBELL P. J., 2013. *Criteria for inference of chromothripsis in cancer genomes*. Cell 152, 1226-1236.
- KOST T. A., KESSLER J. A., PATEL I. R., GRAY J. G., OVERTON L. K., CARTER S. G., 1991. *Human immunodeficiency virus infection and syncytium formation in HeLa cells expressing glycopospholipid-anchored CD4*. J. Virol. 65, 3276-3283.
- LANDRY J., PYL P., T., RAUSCH T., ZICHNER T., TEKEDIL M. M., STÜTZ A. M., JAUCH A., AIYAR R. S., PAU G., DELHOMME N., GAGNEUR J., KORBEL J. O., HUBER W., STEINMETZ L. M., 2013. *The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line*. G3 8, 1213-1224.
- LOWY D. R., SCHILLER J. T., 1998. *Papillomaviruses and cervical cancer: pathogenesis and vaccine development*. J. Natl. Cancer Inst. Monogr. 23, 27-30.
- LUCEY B. P., NELSON-REES W. A., HUTCHINS G. M., 2009. *Henrietta Lacks, HeLa cells, and cell culture contamination*. Arch. Pathol. Lab. Med. 133, 1463-1467.
- MAGDZIK W., NARUSZEWICZ-LESIUK D., ZIELIŃSKI A., 2007. *Choroby zakaźne i pasożytnicze – epidemiologia i profilaktyka*. Alfa-Medica Press, Bielsko-Biała.
- MAHER C. A., WILSON R. K., 2012. *Chromothripsis and human disease: piecing together the shattering process*. Cell 148, 29-32.
- MAJEWSKI S., PANIEWSKI T., GOYAL-STECC M., 2005. *Role wirusów brodawczaka w rozwoju zmian łagodnych i złośliwych okolicy płciowców*. Zakażenia 6, 58-62.
- MASTERS J. R., 2002a. *False cell lines: The problem and a solution*. Cytotechnology 39, 69-74.
- MASTERS J. R., 2002b. *HeLa cells 50 years on: the good, the bad and the ugly*. Nat. Rev. Cancer 2, 315-318.
- MASTERS J. R., 2010. *Cell line misidentification: the beginning of the end*. Nat. Rev. Cancer 10, 441-448.
- MATLASHIEWSKI G., BANKS L., PIM D., CRAWFORD L., 1986. *Analysis of human p53 proteins and mRNA levels in normal and transformed cells*. Eur. J. Biochem. 154, 665-672.
- MCINTYRE P., 2005. *Finding the viral link: the story of Harald zur Hausen*. Cancer World 7, 32-37.
- MCKENZIE D., HENDERSON A. R., 1983. *Electrophoresis of lactate dehydrogenase isoenzymes*. Clin. Chem. 29, 189-195.
- MAY E., JERKINS J. R., MAY P., 1991. *Endogenous HeLa p53 protein are easily detected in HeLa cells transfected with mouse deletion mutant p53 gene*. Oncogene 6, 1363-1365.
- MEYERSON M., 2000. *Role of telomerase in normal and cancer cells*. J. Clin. Pathol. 18, 2626-2634.
- MORIN G. B., 1989. *The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats*. Cell 59, 521-529.
- NARDONE R. M., 2007. *Eradication of cross-contaminated cell lines: a call for action*. Science 315, 928-931.
- NIMS R. W., SHOEMAKER A. P., BAUERNSCHUB M. A., REC L. J., HARBELL J. W., 1998. *Sensitivity of isoenzyme analysis for the detection of interspecies cell line cross-contamination*. In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim. 34, 35-39.
- OLSZEWSKA-SŁONINA D. M., DREWA T. A., 2006. *Hodowla komórek, inżynieria tkankowa i medycyna regeneracyjna. Część I*. Wiad. Lek. 59, 585-589.
- RENEHAN A. G., BOOTH C., POTTEN C. S., 2001. *What is apoptosis, and why is it so important?* BMJ 322, 1536-1538.
- SCHERER W. F., SYVERTON J. T., GEY G. O., 1953. *Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix*. J. Exp. Med. 97, 695-710.
- SEN S., 2000. *Aneuploidy and cancer*. Curr. Opin. Oncol. 12, 82-88.
- SHAY J. W., WRIGHT W. E., 2000. *Hayflick, his limit, and cellular ageing*. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 1, 72-76.
- SHERRIS J., HERDMAN C., ELIAS C., 2001. *Cervical cancer in the developing world*. West. J. Med. 175, 231-233.
- SINGH S., UPADHYAY A. K., AJAY A. K., BHAT M. K., 2007. *p53 regulates ERK activation in carboplatin induced apoptosis in cervical carcinoma: a novel target of p53 in apoptosis*. FEBS Lett. 581, 289-295.
- SKLOOT R., 2011. *Nieśmiertelne życie Henrietty Lacks*. Wydawnictwo Sonia Draga, Katowice.
- STEPHENS P. J., GREENMAN C. D., FU B., YANG F., BIGNELL G. R., MUDIE L. J., PLEASANCE E. D., LAU K. W., BEARE D., STEBBINGS L. A. i współaut., 2011. *Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development*. Cell 144, 27-40.
- SZNAKOWSKA A., OLSZEWSKI R., ZAWACKA-PANKAU J., 2010. *Farmakologiczna aktywacja supresora nowotworu, naturalnego białka p53 jako*

- obiecująca strategia zwalczania nowotworów. Postepy Hig. Med. Dośw. 64, 396-407.
- WADMAN M., 2013. *Medical research: cell division*. Nature 498, 422-426.
- WIDOWATI W., WIJAYA L., WARGASETIA T. L., BACHTIAR I., YELLIANTY Y., LAKSMITAWATI D. R., 2013. *Antioksidant, anticancer, and apoptosis-inducing effects of Piper extracts in HeLa cells*. J. Exp. Integr. Med. 3, 225-230.
- XING X., HE X., PENG J., WANG K., TAN W., 2005. *Uptake of silica-coated nanoparticles by HeLa cells*. J. Nanosci. Nanotechnol. 5, 1688-1693.
- YOSHIDA A., WATANABE S., GARTLER S. M., 1971. *Identification of HeLa cell glucose 6-phosphate dehydrogenase*. Biochem. Genet. 5, 533-539.
- ZAREBSKI M., KORDON M., DOBRUCKI J. W., 2014. *Photosensitized damage inflicted on plasma membranes of live cells by an extracellular generator of singlet oxygen – a linear dependence of a lethal dose on light intensity*. Photochem. Photobiol. 90, 709-715.
- ZHANG C. Z., LEIBOWITZ M. L., PELLMAN D., 2013. *Chromothripsis and beyond: rapid genome evolution from complex chromosomal rearrangements*. Genes Dev. 27, 2513-2530.

KOSMOS Vol. 65, 1, 1-10, 2016THE DISCOVERY OF HELA CELLS: THE BEGINNING OF THE *IN VITRO* RESEARCH REVOLUTION

NATALIA ANNA HARAŃCZYK, EWA AGNIESZKA POCHĘĆ

Department of Glycoconjugate Biochemistry, Institute of Zoology, Jagiellonian University, Gronostajowa 9, 30-387 Krakow,
e-mail: natalia.haranczyk@student.uj.edu.pl, ewa.pochec@uj.edu.pl

Summary

The history of cell culture dates back to the late nineteenth century when Wilhelm Roux for the first time successfully maintained embryonic chicken tissues in a warm saline and established the principles of cells cultivation *in vitro*. Since that time, scientists have endeavored to keep cells alive *in vitro* as model systems for experimental studies outside the body. From the very beginning it was thought that culturing cells *in vitro* would give a chance to find answers to many questions concerning cell biology and structure. The first human cell line was obtained in 1951 from a biopsy for cervical cancer detection. George Gey, an employee of Johns Hopkins Hospital in Baltimore, was the creator of the first human line, named HeLa after the patient Henrietta Lacks. These cells are currently one of the most frequently used cell lines in scientific research. The HeLa cells divide rapidly and their contamination may lead to overgrowth of other cell cultures. Recent studies of the HeLa genome have confirmed the special character of these cells, resulting from altered chromosome number and structural disorder, as well as from altered expression of genes responsible for the metabolic pathways connected with DNA repair and the cell cycle. More than 70,000 articles in various scientific journals have been published on the basis of experiments using HeLa cells. There are over 50 million tons of these cells in laboratories around the world. The HeLa line has contributed to the development of techniques for conservation and culturing of cells. The use of HeLa permitted the discovery of the polio vaccine and the mechanism of HIV infection. The description of the role of HPV in the development of tumors and the discovery of telomerase, both findings made with the use of HeLa cells, have been awarded Nobel Prizes. Without a doubt, HeLa cells have significantly contributed to the advance of science, to reduction of the costs of experiments, and have enabled numerous repetitions of experiments.