

Клетки CHO-K1 | 603480

Обща информация

Description

Клетките CHO-K1 са подлиния, получена от клетъчната линия CHO, която първоначално е създадена в началото на 50-те години на миналия век от яйчник на китайски хамстер. Клетките CHO-K1 се използват широко при производството на терапевтични моноклонални антитела и други биофармацевтични продукти. Широкото им използване в производството на биофармацевтични протеини и ваксини се дължи на тяхната еукариотна природа, която позволява правилно нагъване, сглобяване и посттранслационни модификации, като например гликозилиране, което влияе върху стабилността, ефикасността и безопасността на произведените протеини.

В областта на производството на рекомбинантни протеини клетъчната линия CHO-K1 се използва за експресия на широк спектър от протеини, включително моноклонални антитела, растежни фактори, цитокини и ензими. Тези белтъци намират приложение в терапевтични лечения, диагностични тестове и ваксини.

Клетките CHO-K1 се характеризират със стабилен темп на растеж и са приспособими към различни условия на култивиране, включително суспензионни и адхезивни култури, което ги прави изключително ценни за широкомащабни процеси на биопроизводство. Те притежават високо ниво на генетична стабилност и се използват за разработване на стабилни клетъчни линии, тъй като са способни да амплифицират и експресират екзогенни гени ефективно, което е от решаващо значение за производството на високи добиви на рекомбинантни протеини.

Клетките на китайския хамстер CHO-K1 могат лесно да бъдат трансфектирани с различни вектори за генна експресия, което улеснява редактирането на гени или тяхното изключване. Тази гъвкавост позволява на изследователите да въвеждат специфични гени, да заглушават гени или дори да извършват целенасочено редактиране на гени с помощта на технологии като CRISPR-Cas9 в клетките-носителите CHO-K1.

В заключение, клетките CHO-K1 на китайския хамстер и клетките CHO имат ключово значение за биотехнологичните изследвания и биофармацевтичното производство, като предлагат универсална платформа за изследване на функцията на гените и широкомащабно производство на рекомбинантни протеини.

Organism Китайски хамстер

Tissue Яйчник

Applications Тази клетъчна линия е оптимален избор за токсикологията, промишлените биотехнологии и биопроизводството.

Synonyms CHO K1, CHO K1, клетъчен клонинг CHO K1, GM15452

Характеристики

Age Възрастни

Клетки CHO-K1 | 603480

Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	CHO-K1 (каталожен номер 603480 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_0214

Биомолекулярни данни

Virus susceptibility	Везикуларен стоматит (Индиана), вирус на Гета Устойчивост на вируси: полиовирус 2, вирус на Модок, вирус на Върбата на бутоните
Reverse transcriptase	Отрицателен
Karyotype	Разпределение на честотата на хромозомите 50 клетки: 2n = 22. Стволовидният номер е хиподиплоиден

Работа с

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820600a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 часа

Клетки CHO-K1 | 603480

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm² ще дадат конфуентен слой за около 6 дни

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки CHO-K1 | 603480

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки CHO-K1 | 603480

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.