

CHO-K1-celler | 603480

Generel information

Description

CHO-K1-celler er en sublinje, der stammer fra CHO-cellelinjen, som oprindeligt blev etableret i begyndelsen af 1950'erne fra en ovarie fra en kinesisk hamster. CHO-K1-celler anvendes i vid udstrækning til produktion af terapeutiske monoclonale antistoffer og andre biofarmaceutiske produkter. Deres omfattende brug i biofarmaceutisk proteinproduktion og vacciner tilskrives deres eukaryote natur, som giver mulighed for korrekt foldning, samling og posttranslationelle modifikationer som glykosylering, hvilket påvirker de producerede proteins stabilitet, effektivitet og sikkerhed.

Inden for rekombinant proteinproduktion bruges CHO-K1-cellelinjen til at udtrykke en lang række proteiner, herunder monoclonale antistoffer, vækstfaktorer, cytokiner og enzymer. Disse proteiner anvendes i terapeutiske behandlinger, diagnostiske assays og vaccineformuleringer.

CHO-K1-celler udviser en robust væksthastighed og kan tilpasses forskellige dyrkningsforhold, herunder suspensionskulturer og adhærente kulturer, hvilket gør dem meget værdifulde til bioproduktionsprocesser i stor skala. De har en høj grad af genetisk stabilitet og bruges til udvikling af stabile cellelinjer, da de er i stand til at forstærke og udtrykke eksogene gener effektivt, hvilket er afgørende for at producere høje udbytter af rekombinante proteiner.

CHO-K1 kinesiske hamsterceller kan nemt transfekteres med en række forskellige vektorer til genekspression, hvilket muliggør genredigering eller knockdown. Denne fleksibilitet gør det muligt for forskere at introducere specifikke gener, slå gener fra eller endda udføre målrettet genredigering ved hjælp af teknologier som CRISPR-Cas9 i CHO-K1-værtsceller.

Konklusionen er, at CHO-K1-celler fra kinesiske hamstere og CHO-celler er centrale i bioteknologisk forskning og biofarmaceutisk produktion, idet de tilbyder en alsidig platform til undersøgelse af genfunktion og produktion af rekombinante proteiner i stor skala.

Organism Kinesisk hamster

Tissue Æggestokkene

Applications Denne cellelinje er et optimalt valg til toksikologi, industriel bioteknologi og bioproduktion.

Synonyms CHO K1, CHOK1, CHO-celleklon K1, GM15452

Karakteristika

Age Voksen

Gender Kvinde

Morphology Epitel-lignende

CHO-K1-celler | 603480

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation CHO-K1 (Cytion katalognummer 603480)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

CellosaurusAccession CVCL_0214

Biomolekylære data

Virus susceptibility Vesikulær stomatitis (Indiana), Getah-virus Virusresistens: poliovirus 2, modoc-virus, Button Willow-virus

Reverse transcriptase Negativ

Karyotype Kromosomfrekvensfordeling 50 celler: $2n = 22$. Stamlinjetallet er hypodiploid

Håndtering

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820600a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 22 timer

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

CHO-K1-celler | 603480

Seeding density 1×10^4 celler/cm² vil danne et sammenhængende lag på ca. 6 dage.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befugtet atmosfære.

CHO-K1-celler | 603480

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.