

Κύτταρα CHO-K1 (προσαρμοσμένα σε εναιώρημα) | 603486

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα CHO-K1 είναι μια υποσειρά που προέρχεται από την κυτταρική σειρά CHO, η οποία δημιουργήθηκε αρχικά στις αρχές της δεκαετίας του 1950 από ωθήκη κινεζικού χάμστερ. Τα κύτταρα CHO-K1 χρησιμοποιούνται ευρέως στην παραγωγή θεραπευτικών μονοκλωνικών αντισωμάτων και άλλων βιοφαρμακευτικών προϊόντων. Η εκτεταμένη χρήση τους στην παραγωγή βιοφαρμακευτικών πρωτεϊνών και εμβολίων αποδίδεται στην ευκαρυωτική φύση τους, η οποία επιτρέπει τη σωστή αναδίπλωση, συναρμολόγηση και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, όπως η γλυκοζυλίωση, οι οποίες επηρεάζουν τη σταθερότητα, την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των παραγόμενων πρωτεϊνών.

Στο πεδίο της παραγωγής ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών, η κυτταρική σειρά CHO-K1 χρησιμοποιείται για την έκφραση ενός ευρέος φάσματος πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων μονοκλωνικών αντισωμάτων, αυξητικών παραγόντων, κυτταροκινών και ενζύμων. Αυτές οι πρωτεΐνες έχουν εφαρμογές σε θεραπευτικές αγωγές, διαγνωστικές δοκιμασίες και σκευάσματα εμβολίων.

Τα κύτταρα CHO-K1 παρουσιάζουν ισχυρό ρυθμό ανάπτυξης και είναι προσαρμόσιμα σε διάφορες συνθήκες καλλιέργειας, συμπεριλαμβανομένων των εναιωρημάτων και των προσκολλημένων καλλιεργειών, καθιστώντας τα ιδιαίτερα πολύτιμα για διαδικασίες βιοπαραγωγής μεγάλης κλίμακας. Διαθέτουν υψηλό επίπεδο γενετικής σταθερότητας και χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη σταθερών κυτταρικών σειρών, καθώς είναι ικανά να ενισχύουν και να εκφράζουν αποτελεσματικά εξωγενή γονίδια, γεγονός που είναι κρίσιμο για την παραγωγή υψηλών αποδόσεων ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών.

Τα κύτταρα κινεζικού χάμστερ CHO-K1 μπορούν εύκολα να διαμολυνθούν με μια ποικιλία φορέων για γονιδιακή έκφραση, διευκολύνοντας την επεξεργασία ή την απομάκρυνση γονιδίων. Αυτή η ευελιξία επιτρέπει στους ερευνητές να εισάγουν συγκεκριμένα γονίδια, να σιωπούν γονίδια ή ακόμη και να εκτελούν στοχευμένη γονιδιακή επεξεργασία χρησιμοποιώντας τεχνολογίες όπως η CRISPR-Cas9 σε κύτταρα ξενιστές CHO-K1.

Εν κατακλείδι, τα κύτταρα CHO-K1 κινεζικού χάμστερ και τα κύτταρα CHO είναι ζωτικής σημασίας για τη βιοτεχνολογική έρευνα και τη βιοφαρμακευτική παραγωγή, προσφέροντας μια ευέλικτη πλατφόρμα για τη μελέτη της γονιδιακής λειτουργίας και την παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών σε μεγάλη κλίμακα.

Organism Κινέζικο χάμστερ

Tissue Ωοθήκη

Applications Αυτή η κυτταρική σειρά αποτελεί βέλτιστη επιλογή για την τοξικολογία, τη βιομηχανική βιοτεχνολογία και τη βιοπαραγωγή.

Synonyms CHO K1, CHOK1, κλώνος κυττάρων CHO K1, GM15452

Χαρακτηριστικά

Age Ενηλίκων

Gender Γυναίκα

Κύτταρα CHO-K1 (προσαρμοσμένα σε εναιώρημα) | 603486**Morphology** Επιθηλιοειδής**Growth properties** Αναστολή**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** Προσαρμοσμένο εναιώρημα CHO-K1 (αριθμός καταλόγου Cytion 603486)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_0214**Βιομοριακά δεδομένα****Virus susceptibility** Vesicular stomatitis (Indiana), ιός Getah Virus Resist: poliovirus 2, modoc virus, Button Willow virus**Reverse transcriptase** Αρνητικό**Karyotype** Κατανομή συχνότητας χρωμοσωμάτων 50 κύτταρα: $2n = 22$. Ο αριθμός των στελεχών είναι υποδιπλοειδής**Χειρισμός****Culture Medium** CD CHO της ThermoFisher, χωρίς ορό, έτοιμο προς χρήση.**Supplements** L-γλουταμίνη: προσθέστε έως ότου η τελική συγκέντρωση φτάσει τα 8 mM (συνήθως 40 mL ανά λίτρο διαλύματος αποθέματος 200 mM) πριν από τη χρήση. Αυτό είναι υποχρεωτικό για τα κύτταρα CD CHO. Προσθέστε παράγοντα κατά της συσσωμάτωσης σε αναλογία 1:100 και συμπλήρωμα HT σε αναλογία 1:100 στο κυτταρικό εναιώρημα.**Dissociation Reagent** Κανένα**Doubling time** 22 ώρες

Κύτταρα CHO-K1 (προσαρμοσμένα σε εναιώρημα) | 603486

Subculturing Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με πιπέτωση προς τα πάνω και προς τα κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα για να επιτύχετε συγκέντρωση κυττάρων 1×10^5 κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το ρυθμισμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.

Seeding density 4×10^5 κύτταρα/ml

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα CHO-K1 (προσαρμοσμένα σε εναιώρημα) | 603486**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5% CO₂, υγρασμένη ατμόσφαιρα. Τα κύτταρα πρέπει να καλλιεργούνται σε τροχιακό αναδευτήρα, σε φιάλες Erlenmeyer με διαχωριστικά, με ταχύτητα 110 στροφών ανά λεπτό.

**Shipping
Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.