

Κύτταρα CHO | 603479

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα ωθήκης κινέζικου χάμστερ (CHO) αποτελούν ακρογωνιαίο λίθο στον τομέα της βιοτεχνολογίας και χρησιμοποιούνται σε μεγάλο βαθμό στη διαδικασία ανάπτυξης κυτταρικών σειρών CHO για την παρασκευή βιοφαρμάκων. Σε αυτά περιλαμβάνονται τα μονοκλωνικά αντισώματα, η έκφραση ανασυνδυασμένων αντισωμάτων και τα εμβόλια. Τα πολλά πλεονεκτήματα των κυττάρων CHO υπογραμμίζουν τη δημοτικότητα τους στη βιοπαραγωγή, τοποθετώντας τα ως μια ισχυρή και ευέλικτη ζωική κυτταρική σειρά με αποδεδειγμένο ιστορικό στη γενετική, τη μοριακή βιολογία, τον έλεγχο τοξικότητας, τη διατροφή και τις μελέτες γονιδιακής έκφρασης.

Η συμβολή των κυττάρων CHO στη βιοφαρμακευτική βιομηχανία είναι τεράστια, με το ρόλο τους στην ανάπτυξη ανασυνδυασμένων αντισωμάτων και στην παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων να είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Σχεδόν 50 βιοθεραπείες που αναπτύχθηκαν με τη χρήση αυτών των κυττάρων έχουν εγκριθεί στις ΗΠΑ και την ΕΕ, γεγονός που αποδεικνύει την αποτελεσματικότητα των κυττάρων CHO και τον αναπόσπαστο ρόλο τους στην ανάπτυξη αντισωμάτων. Η πρόελευσή τους από χάμστερ συμβάλλει στη χαμηλότερη ευαισθησία σε ιούς, ενισχύοντας τη βιοασφάλεια σε περιβάλλοντα βιοπαραγωγής και μειώνοντας τις διακυμάνσεις μεταξύ παρτίδων.

Τα κύτταρα CHO είναι κατάλληλα για την παραγωγή πρωτεϊνών που υφίστανται μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, κάτι που είναι κρίσιμο για την παραγωγή θεραπευτικών πρωτεϊνών. Η ευελιξία των κυττάρων που προέρχονται από την ωθήκη κινέζικου χάμστερ αναδεικνύεται περαιτέρω από τους γρήγορους ρυθμούς πολλαπλασιασμού τους και τους υψηλούς ρυθμούς έκφρασης πρωτεϊνών 1-5 γραμμάρια ανά λίτρο καλλιέργειας. Η ευκολία καλλιέργειας των κυττάρων CHO και η ικανότητά τους να τροποποιούνται γενετικά καθιστούν τα κύτταρα CHO βέλτιστη επιλογή τόσο για μελέτες παροδικής όσο και σταθερής έκφρασης.

Η κυτταρική σειρά CHO-K1, παράγωγο των αρχικών κυττάρων ωθήκης κινέζικου χάμστερ (CHO), χρησιμοποιείται συχνά για την έκφραση ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών, ιδίως για την παραγωγή θεραπευτικών πρωτεϊνών και ανασυνδυασμένων αντισωμάτων. Υπερέχουν στην παραγωγή θεραπευτικών πρωτεϊνών και αντισωμάτων λόγω της αποτελεσματικής μετα-μεταφραστικής τροποποίησης, ιδίως της γλυκοζυλίωσης. Οι ερευνητές τροποποιούν τα κύτταρα CHO-K1 για να ενισχύσουν την έκφραση των πρωτεϊνών και να προσαρμόσουν τη γλυκοζυλίωση για συγκεκριμένες θεραπείες, ζωτικής σημασίας στη βιοϊατρική.

Συμπερασματικά, η κυτταρική σειρά ωθηκών κινέζικου χάμστερ, γνωστή για την αξιοσημείωτη ικανότητά της να μιμείται τις ανθρώπινες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, αποτελεί ανεκτίμητη επιστημονική πηγή. Είτε ξεπερνώντας τη δυσκολία έκφρασης δύσκολων πρωτεϊνών είτε την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων, τα κύτταρα CHO έχουν φέρει επανάσταση στην ανάπτυξη και παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνικών θεραπευτικών ουσιών. Παραμένουν κομβικής σημασίας στη σύγχρονη ιατρική, χρησιμεύοντας ως ακρογωνιαίος λίθος για τη βιοφαρμακευτική παραγωγή και αντικατοπτρίζοντας τις εξελίξεις στη βιοτεχνολογία.

Organism Κινέζικο χάμστερ

Tissue Ωοθήκη

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

Synonyms Ωοθήκη κινέζικου χάμστερ, CHO-ori

Κύτταρα CHO | 603479

Χαρακτηριστικά

| | |
|--------------------------|-------------------------------|
| Age | Ενηλίκων |
| Gender | Γυναίκα |
| Morphology | Επιθηλιοειδής |
| Growth properties | Μονοστρωματική, προσκολλημένη |

Ρυθμιστικά δεδομένα

| | |
|-----------------------------|---------------------------------------|
| Citation | CHO (αριθμός καταλόγου Cytion 603479) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10029 |
| CellosaurusAccession | CVCL_0213 |

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

| | |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Culture Medium | Ham's F12, w: 1,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820600a) |
| Supplements | Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα CHO | 603479

Seeding density 3×10^4 κύτταρα/cm² θα αποδώσουν ένα συνεκτικό στρώμα σε περίπου 4 ημέρες.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυσυντήρησης, 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 κρυσυντήρηση.

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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x 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 | 603479

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating Κανένα

Freezing Procedure Οι κρουσυντηρημένες 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.

Shipping Conditions Οι κρουσυντηρημένες 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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

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.