

CHO-solut | 603479

Yleisiä tietoja

Description

Kiinalaisen hamsterin munasarjasolut (CHO-solut) ovat biotekniikan alan kulmakivi, ja niitä hyödynnetään paljon CHO-solulinjojen kehittämisprosessissa biolääkkeiden valmistuksessa. Näihin kuuluvat monoklonaaliset vasta-aineet, rekombinanttivasta-aineiden ilmentäminen ja rokotteet. CHO-solujen monet edut korostavat niiden suosiota biovalmistuksessa, ja ne ovat vankka ja monipuolinen eläinsolulinja, jolla on todistettusti hyviä tuloksia genetiikassa, molekyylibiologiassa, toksisuusseulonnassa, ravitsemuksessa ja geeniekspressiotutkimuksissa.

CHO-solujen merkitys biofarmaseuttiselle teollisuudelle on valtava, ja erityisen merkittävä on niiden rooli rekombinanttivasta-aineiden ja monoklonaalisten vasta-aineiden tuotannossa. Lähes 50 näiden solujen avulla kehitettyä bioterapiaa on hyväksytty Yhdysvalloissa ja EU:ssa, mikä kertoo CHO-solujen tehokkuudesta ja niiden keskeisestä roolista vasta-aineiden kehittämisessä. Niiden hamsteriperäisyys vähentää alttiutta viruksille, parantaa bioturvallisuutta biotuotannossa ja vähentää eräkohtaista vaihtelua.

CHO-solut soveltuvat hyvin sellaisten proteiinien tuottamiseen, joihin tehdään translaation jälkeisiä muutoksia, mikä on kriittistä terapeuttisten proteiinien tuotannossa. Kiinalaisista hamsterin munasarjoista peräisin olevien solujen monipuolisuutta korostavat myös niiden nopea lisääntymisnopeus ja proteiinien korkea ilmentymisnopeus, joka on 1-5 grammaa litrassa viljelyä. CHO-solujen helppo viljeltävyys ja niiden geneettinen muunneltavuus tekevät CHO-soluista optimaalisen valinnan sekä ohimeneviin että stabiileihin ekspressiotutkimuksiin.

CHO-K1-solulinjaa, joka on alkuperäisten kiinalaisen hamsterin munasarjasolujen (CHO) johdannainen, käytetään usein rekombinanttiproteiinien ilmentämisessä, erityisesti terapeuttisten proteiinien ja rekombinanttien vasta-aineiden tuotannossa. Ne ovat erinomaisia terapeuttisten proteiinien ja vasta-aineiden tuottamisessa tehokkaan translaation jälkeisen modifikaation, erityisesti glykosylaation, ansiosta. Tutkijat muokkaavat CHO-K1-soluja parantaakseen proteiinien ilmentymistä ja räätälöidäkseen glykosylaatiota tiettyjä hoitomuotoja varten, mikä on ratkaisevan tärkeää biolääketieteessä.

Yhteenvetona voidaan todeta, että kiinalaisen hamsterin munasarjasolulinja, joka tunnetaan huomattavasta kyvystään jäljitellä ihmisen translaation jälkeisiä muutoksia, on korvaamaton tieteellinen resurssi. CHO-solut ovat mullistaneet rekombinanttiproteiiniterapioiden kehittämisen ja tuotannon, olipa kyse sitten haastavien proteiinien ilmentämisen tai monoklonaalisten vasta-aineiden tuotannon vaikeuksien voittamisesta. Ne ovat edelleen keskeisessä asemassa nykyaikaisessa lääketieteessä, sillä ne toimivat biolääkkeiden tuotannon kulmakivenä ja heijastavat biotekniikan kehitystä.

Organism

Kiinalainen hamsteri

Tissue

Munasarja

Applications

Tämä solulinja on optimaalinen valinta toksikologiaan, teolliseen biotekniikkaan ja biotuotantoon.

Synonyms

Kiinanhamsterin munasarja, CHO-ori

Ominaisuudet

CHO-solut | 603479

Age	Aikuiset
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation	CHO (Cytionin luettelonumero 603479)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_0213

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820600a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 3×10^4 solua/cm² tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 4 päivässä.

CHO-solut | 603479

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

CHO-solut | 603479

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.