Product sheet

CHO-K1-solut | 603480

Yleisiä tietoja

Description	CHO-K1-solut ovat alalinja, joka on peräisin CHO-solulinjasta, joka on alun perin luotu 1950-luvun alussa kiinalaisen hamsterin munasarjasta. CHO-K1-soluja käytetään laajalti terapeuttisten monoklonaalisten vasta-aineiden ja muiden biolääkkeiden tuotannossa. Niiden laajamittainen käyttö biofarmaseuttisten proteiinien ja rokotteiden tuotannossa johtuu niiden eukaryoottisesta luonteesta, joka mahdollistaa niiden asianmukaisen taittumisen, kokoonpanon ja posttranslationaaliset modifikaatiot, kuten glykosylaation, jotka vaikuttavat tuotettujen proteiinien vakauteen, tehokkuuteen ja turvallisuuteen. Rekombinanttiproteiinien tuotannossa CHO-K1-solulinjaa käytetään monenlaisten proteiinien, kuten monoklonaalisten vasta-aineiden, kasvutekijöiden, sytokiinien ja entsyymien ilmentämiseen. Näitä proteiineja käytetään terapeuttisissa hoidoissa, diagnostisissa testeissä ja rokotevalmisteissa. CHO-K1-soluilla on voimakas kasvunopeus, ja ne soveltuvat erilaisiin viljelyolosuhteisiin, kuten suspensio- ja adheesioviljelmiin, mikä tekee niistä erittäin arvokkaita laajamittaisissa biotuotantoprosesseissa. Niillä on korkea geneettinen stabiilisuus, ja niitä käytetään vakaiden solulinjojen kehittämiseen, koska ne pystyvät monistamaan ja ilmentämään eksogeenisia geenejä tehokkaasti, mikä on ratkaisevan tärkeää rekombinanttiproteiinien suurten saantojen tuottamiseksi. CHO-K1-kiinanhamsterisolut voidaan helposti transfektoida erilaisilla vektoreilla geenien ekspressiota varten, mikä helpottaa geenieditointia tai knockdownia. Tämän joustavuuden ansiosta tutkijat voivat tuoda CHO-K1-isäntäsoluihin tiettyjä geenejä, hiljentää geenejä tai jopa suorittaa kohdennettua geenieditointia CRISPR-Cas9:n kaltaisilla tekniikoilla. Yhteenvetona voidaan todeta, että kiinalaisen hamsterin CHO-K1-solut ja CHO-solut ovat keskeisiä bioteknologisessa tutkimuksessa ja biolääkkeiden tuotannossa, sillä ne tarjoavat monipuolisen alustan geenien toiminnan tutkimiseen ja rekombinanttiproteiinien laajamittaiseen tuotantoon.
Organism	Kiinalainen hamsteri
Tissue	Munasarja
Applications	Tämä solulinja on optimaalinen valinta toksikologiaan, teolliseen biotekniikkaan ja biotuotantoon.
Synonyms	CHO K1, CHOK1, CHO-soluklooni K1, GM15452

Ominaisuudet

Age	Aikuiset
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen

CHO-K1-solut | 603480

Growth properties	Yksikerroksinen, tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	CHO-K1 (Cytionin luettelonumero 603480)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_0214

Biomolekyylitiedot

Virus susceptibility	Vesicular stomatitis (Indiana), Getah-virus Virus Resistenssi: poliovirus 2, modoc-virus, Button Willow -virus
Reverse transcriptase	Negatiivinen
Karyotype	Kromosomien frekvenssijakauma 50 solua: 2n = 22. Kantasolumäärä on hypodiploidi

Käsittely

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820600a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	22 tuntia
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.

CHO-K1-solut | 603480

Seeding density	1 x 10^4 solua/cm^2 tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 6 päivässä.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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 typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.