

Cellule CHO-K1 (adattate alla coltura in sospensione) | 603486

Informazioni generali

Description

Le cellule CHO-K1 sono una sotto-linea derivata dalla linea cellulare CHO, che è stata originariamente creata nei primi anni '50 a partire da un ovaio di criceto cinese. Le cellule CHO-K1 sono ampiamente utilizzate nella produzione di anticorpi monoclonali terapeutici e altri biofarmaci. Il loro ampio utilizzo nella produzione di proteine e vaccini biofarmaceutici è attribuito alla loro natura eucariotica, che consente un corretto ripiegamento, assemblaggio e modifiche post-traslazionali come la glicosilazione, che influenza la stabilità, l'efficacia e la sicurezza delle proteine prodotte.

Nel campo della produzione di proteine ricombinanti, la linea cellulare CHO-K1 viene utilizzata per esprimere un'ampia gamma di proteine, tra cui anticorpi monoclonali, fattori di crescita, citochine ed enzimi. Queste proteine trovano applicazione in trattamenti terapeutici, test diagnostici e formulazioni di vaccini.

Le cellule CHO-K1 presentano un tasso di crescita robusto e sono adattabili a varie condizioni di coltura, comprese quelle in sospensione e aderenti, il che le rende molto utili per i processi di bioproduzione su larga scala. Possiedono un elevato livello di stabilità genetica e sono utilizzate per lo sviluppo di linee cellulari stabili, in quanto sono in grado di amplificare ed esprimere in modo efficiente i geni esogeni, il che è fondamentale per produrre elevate rese di proteine ricombinanti.

Le cellule CHO-K1 di criceto cinese possono essere facilmente trasfettate con una varietà di vettori per l'espressione genica, facilitando l'editing o il knockdown genico. Questa flessibilità consente ai ricercatori di introdurre geni specifici, silenziare geni o persino eseguire un editing genico mirato utilizzando tecnologie come CRISPR-Cas9 nelle cellule ospiti CHO-K1.

In conclusione, le cellule CHO-K1 di criceto cinese e le cellule CHO sono fondamentali per la ricerca biotecnologica e la produzione biofarmaceutica, in quanto offrono una piattaforma versatile per lo studio della funzione genica e la produzione su larga scala di proteine ricombinanti.

Organism

Criceto cinese

Tissue

Ovaio

Applications

Questa linea cellulare è una scelta ottimale per la tossicologia, la biotecnologia industriale e la bioproduzione.

Synonyms

CHO K1, CHOK1, clone cellulare CHO K1, GM15452

Caratteristiche

Age

Adulti

Gender

Donna

Morphology

Simile all'epitelio

Cellule CHO-K1 (adattate alla coltura in sospensione) | 603486

Growth properties Sospensione

Dati normativi

Citation Sospensione CHO-K1 adattata (codice catalogo Cytion 603486)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

CellosaurusAccession CVCL_0214

Dati biomolecolari

Virus susceptibility Stomatite vescicolare (Indiana), Getah virus Virus Resist: poliovirus 2, modoc virus, Button Willow virus

Reverse transcriptase Negativo

Karyotype Distribuzione della frequenza cromosomica 50 cellule: 2n = 22. Il numero di staminali è ipodiploide

Manipolazione

Culture Medium CD CHO ThermoFisher, privo di siero e pronto all'uso.

Supplements L-glutamina: aggiungere fino a raggiungere una concentrazione finale di 8 mM (in genere 40 mL per litro di soluzione madre a 200 mM) prima dell'uso. Questa operazione è obbligatoria per le cellule CHO CD. Aggiungere alla sospensione cellulare l'agente antiagglomerante in rapporto 1:100 e l'integratore HT in rapporto 1:100.

Dissociation Reagent Nessuno

Doubling time 22 ore

Subculturing Omogeneizzare delicatamente la sospensione cellulare nel pallone pipettando verso l'alto e verso il basso, quindi prelevare un campione rappresentativo per determinare la densità cellulare per mL. Diluire la sospensione per ottenere una concentrazione cellulare di 1×10^5 cellule/mL con terreno di coltura fresco e aliquotare la sospensione regolata in nuovi palloni per l'ulteriore coltivazione.

Cellule CHO-K1 (adattate alla coltura in sospensione) | 603486**Seeding density** 4×10^5 cellule/ml**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.**Thawing and Culturing Cells**

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a $300 \times g$ per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , atmosfera umidificata. Le cellule devono essere coltivate su un agitatore orbitale in beute di Erlenmeyer dotate di deflettori, a 110 giri al minuto.

Cellule CHO-K1 (adattate alla coltura in sospensione) | 603486

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.