

CHO ląstelės | 603479

Bendra informacija

Description

Kinijos žiurkėnų kiaušidžių (CHO) ląstelės yra kertinis biotechnologijų srities akmuo ir plačiai naudojamos kuriant CHO ląstelių linijas biofarmaciniais preparatais gaminti. Tai apima monokloninius antikūnus, rekombinantinių antikūnų išraišką ir vakcinas. Daugybė CHO ląstelių privalumų pabrėžia jų populiarumą biomedžiagų gamyboje, todėl jos yra patikima ir universali gyvūnų ląstelių linija, įrodžiusi savo pranašumus genetikoje, molekulinės biologijos, toksikologijos, mitybos ir genų raiškos tyrimuose.

CHO ląstelių indėlis į biofarmacijos pramonę yra didžiulis, ypač svarbus jų vaidmuo kuriant rekombinantinius antikūnus ir gaminant monokloninius antikūnus. Beveik 50 bioterapinių vaistų, sukurtų naudojant šias ląsteles, buvo patvirtinti JAV ir ES, o tai rodo CHO ląstelių veiksmingumą ir jų neatsiejamą vaidmenį kuriant antikūnus. Dėl žiurkėnų kilmės jos yra mažiau jautrios virusams, todėl didėja biologinė sauga biologinės gamybos aplinkoje ir mažėja atskirų partijų skirtumai.

CHO ląstelės puikiai tinka gaminti baltymus, kurie po transliacinių modifikacijų yra labai svarbūs gydomųjų baltymų gamybai. Kinijos žiurkėnų kiaušidžių ląstelių universalumą dar labiau išryškina jų greitas dauginimasis ir didelis baltymų išraiškos greitis - 1-5 gramai litre kultūros. Dėl to, kad CHO ląsteles lengva kultivuoti ir jas galima genetiškai modifikuoti, CHO ląstelės yra optimalus pasirinkimas tiek trumpalaikiams, tiek stabiliems raiškos tyrimams.

CHO-K1 ląstelių linija, originalių Kinijos žiurkėnų kiaušidžių ląstelių (CHO) darinys, dažnai naudojama rekombinantiniams baltymams ekspresuoti, ypač gydomiesiems baltymams ir rekombinantiniams antikūnams gaminti. Jos puikiai tinka gydomiesiems baltymams ir antikūnams gaminti dėl veiksmingos potransliacinės modifikacijos, ypač dėl glikozilavimo. Mokslininkai modifikuoja CHO-K1 ląsteles, kad padidintų baltymų raišką ir pritaikytų glikozilavimą specifiniams gydymo būdams, kurie yra labai svarbūs biomedicinoje.

Apibendrinant galima teigti, kad Kinijos žiurkėnų kiaušidžių ląstelių linija, pasižyminti puikiu gebėjimu imituoti žmogaus posttransliacines modifikacijas, yra neįkainojamas mokslinis šaltinis. CHO ląstelės, padedančios įveikti sudėtingų baltymų raiškos sunkumus ar monokloninių antikūnų gamybą, sukėlė revoliuciją rekombinantinių baltyminių terapinių preparatų kūrimo ir gamybos srityje. Jos ir toliau išlieka svarbiausios šiuolaikinėje medicinoje, yra biofarmacinės gamybos pagrindas ir atspindi biotechnologijų pažangą.

Organism Kinų žiurkėnas

Tissue Kiaušidės

Applications Ši ląstelių linija yra optimalus pasirinkimas toksikologijai, pramoninei biotechnologijai ir bioprodukcijai.

Synonyms Kinijos žiurkėnų kiaušidės, CHO-ori

Charakteristikos

Age Suaugusiųjų

Gender Moteris

CHO ląstelės | 603479

Morphology | epitelį panašus**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation CHO (Cytion katalogo numeris 603479)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_0213

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabilus glutaminas, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820600a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 3×10^4 ląstelės/cm² per maždaug 4 dienas sudarys susiliejančią sluoksnį.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

CHO ląstelės | 603479

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

CHO ląstelės | 603479

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.