

CHO-K1 šūnas (pielāgotas suspensijai) | 603486

Vispārīga informācija

Description

CHO-K1 šūnas ir apakšlīnija, kas atvasināta no CHO šūnu līnijas, kura sākotnēji tika izveidota pagājušā gadsimta 50. gadu sākumā no Ķīnas kāmjā olnīcas. CHO-K1 šūnas plaši izmanto terapeitisko monoklonālo antivielu un citu biofarmaceutisko preparātu ražošanā. To plašais pielietojums biofarmaceutisko proteīnu un vakcīnu ražošanā ir saistīts ar to eikariotisko dabu, kas ļauj pareizi salocīties, montēties un veikt post-translācijas modifikācijas, piemēram, glikozilēšanu, kas ietekmē saražoto proteīnu stabilitāti, efektivitāti un drošību.

Rekombinantu olbaltumvielu ražošanas jomā CHO-K1 šūnu līniju izmanto, lai ekspresētu plašu olbaltumvielu klāstu, tostarp monoklonālās antivielas, augšanas faktorus, citokīnus un fermentus. Šos proteīnus izmanto terapeitiskās ārstēšanas, diagnostikas testos un vakcīnu preparātos.

CHO-K1 šūnām piemīt spēcīgs augšanas ātrums, un tās ir pielāgojamas dažādiem kultivēšanas apstākļiem, tostarp suspensijas un adherentām kultūrām, tāpēc tās ir ļoti vērtīgas liela mēroga bioprodukcijas procesos. Tām piemīt augsta līmeņa ģenētiskā stabilitāte, un tās izmanto stabili šūnu līniju izstrādei, jo tās spēj efektīvi amplificēt un ekspresēt eksogēnus, kas ir ļoti svarīgi, lai iegūtu lielu daudzumu rekombinantu proteīnu.

CHO-K1 Ķīnas kāmjā šūnas var viegli transficēt ar dažādiem vektoriem gēnu ekspresijai, atvieglojot gēnu rediģēšanu vai izslēgšanu. Šī elastība ļauj pētniekiem CHO-K1 saimnieka šūnās ieviest konkrētus gēnus, aplūsināt gēnus vai pat veikt mērķtiecīgu gēnu rediģēšanu, izmantojot tādas tehnoloģijas kā CRISPR-Cas9.

Noslēgumā jāsecina, ka Ķīnas kāmjā CHO-K1 šūnas un CHO šūnas ir izšķirošas biotehnoloģiskajos pētījumos un biofarmaceutisko preparātu ražošanā, piedāvājot daudzpusīgu platformu gēnu funkciju izpētei un liela apjoma rekombinantu proteīnu ražošanai.

Organism

Ķīniešu kāmis

Tissue

Olnīcas

Applications

Šī šūnu līnija ir optimāla izvēle toksikoloģijai, rūpnieciskajai biotehnoloģijai un bioprodukcijai.

Synonyms

CHO K1, CHOK1, CHO šūnu klons K1, GM15452

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Apturēšana

CHO-K1 šūnas (pielāgotas suspensijai) | 603486

Normatīvie dati

Citation	Pielāgota CHO-K1 suspensija (Cytion kataloga numurs 603486)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_0214

Biomolekulārie dati

Virus susceptibility	Vesikulārais stomatīts (Indiana), Getah vīruss Pret vīrusiem rezistenti: poliovīruss 2, modoc vīruss, Button Willow vīruss
Reverse transcriptase	Negatīvs
Karyotype	Hromosomu biežuma sadalījums 50 šūnas: $2n = 22$. Cilindru skaits ir hipodiploīds

Darbs ar

Culture Medium	CD CHO ThermoFisher, bez seruma, gatavs lietošanai.
Supplements	L-glutamīns: pirms lietošanas pievienojiet, lai galīgā koncentrācija būtu 8 mM (parasti 40 ml uz litru 200 mM pamatšķīduma). Tas ir obligāti jāievēro, izmantojot CD CHO šūnas. Šūnu suspensijai pievienojiet pretagregācijas līdzekli attiecībā 1:100 un HT piedevu attiecībā 1:100.
Dissociation Reagent	Neviens
Doubling time	22 stundas
Subculturing	Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1×10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.
Seeding density	4×10^5 šūnas/ml
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

CHO-K1 šūnas (pielāgotas suspensijai) | 603486**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, mitrināta atmosfēra. Šūnas jākultivē uz orbitālās kratīšanas iekārtas, izmantojot Erlenmajera kratīšanas kolbas ar starpsienām, ar ātrumu 110 apgr./min.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

CHO-K1 šūnas (pielāgotas suspensijai) | 603486

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.