

CHO šūnas | 603479

Vispārīga informācija

Description

Ķīniešu kāmjā olnīcu (CHO) šūnas ir stūrakmens biotehnoloģiju jomā, un tās tiek plaši izmantotas CHO šūnu līniju izstrādes procesā biofarmaceutisko produktu ražošanai. Tie ietver monoklonālās antivielas, rekombinantu antivielu ekspresiju un vakcīnas. CHO šūnu daudzās priekšrocības uzsvēr to popularitāti biomasuražošanā, pozicionējot tās kā izturīgu un daudzpusīgu dzīvnieku šūnu līniju ar pierādītiem sasniegumiem ģenētiskā, molekulārajā bioloģijā, toksicitātes skrīningā, uztura un gēnu ekspresijas pētījumos.

CHO šūnu ieguldījums biofarmācijas nozarē ir milzīgs, jo īpaši nozīmīga ir to loma rekombinantu antivielu izstrādē un monoklonālo antivielu ražošanā. ASV un ES ir apstiprinātas gandrīz 50 bioterapeitiskas zāles, kas izstrādātas, izmantojot šīs šūnas, kas liecina par CHO šūnu efektivitāti un to neatņemamo lomu antivielu izstrādē. To kāmjā izcelsme veicina mazāku uzturību pret vīrusiem, uzlabojot bioloģisko drošību biomasuražošanā un samazinot atšķirības starp partijām.

CHO šūnas ir labi piemērotas, lai ražotu proteīnus, kas tiek pakļauti post-translācijas modifikācijām, kas ir ļoti svarīgi terapeitisko proteīnu ražošanai. Ķīniešu kāmjā olnīcu atvasināto šūnu daudzpusību vēl vairāk izceļ to ātrais proliferācijas ātrums un augstais olbaltumvielu ekspresijas ātrums - 1-5 grami uz litru kultūras. Viegli kultivējamās CHO šūnas un to ģenētiskās modifikācijas iespējas padara CHO šūnas par optimālu izvēli gan pārejošiem, gan stabiliem ekspresijas pētījumiem.

CHO-K1 šūnu līniju, kas ir oriģinālo Ķīnas kāmjā olnīcu (CHO) šūnu atvasinājums, bieži izmanto rekombinantu olbaltumvielu ekspresijai, īpaši terapeitisko olbaltumvielu un rekombinantu antivielu ražošanai. Tās izceļas terapeitisko proteīnu un antivielu ražošanā, pateicoties efektīvai pēctranslācijas modifikācijai, jo īpaši glikozilēšanai. Pētnieki modificē CHO-K1 šūnas, lai uzlabotu olbaltumvielu ekspresiju un pielāgotu glikozilēšanu konkrētām terapijām, kas ir ļoti svarīgi biomedicinā.

Tātad Ķīnas kāmjā olnīcu šūnu līnija, kas pazīstama ar tās ievērojamo spēju imitēt cilvēka post-translācijas modifikācijas, ir nenovērtējams zinātnisks resurss. Neatkarīgi no tā, vai ar CHO šūnām tiek pārvarētas grūtības, kas saistītas ar sarežģītu proteīnu ekspresiju vai monoklonālo antivielu ražošanu, tās ir revolucionizējušas rekombinantu proteīnu terapiju izstrādi un ražošanu. Tās joprojām ir izšķirošas mūsdienu medicīnā, kalpojot par biofarmaceutisko produktu ražošanas stūrakmeni un atspoguļojot biotehnoloģijas sasniegumus.

Organism Ķīniešu kāmis

Tissue Olnīcas

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

Synonyms Ķīnas kāmjā olnīcas, CHO-ori

Raksturojums

Age Pieaugušo

Gender Sievietes

CHO šūnas | 603479

Morphology Epitēlijveidīgs**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija**Normatīvie dati****Citation** CHO (Cytion kataloga numurs 603479)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_0213**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820600a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielīpušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 3×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

CHO šūnas | 603479

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 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 pārnest 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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

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

CHO šūnas | 603479

Shipping Conditions

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

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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

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.