

CHO-K1-celler (tilpasset til suspensjonskultur) | 60348

6

Generell informasjon**Description**

CHO-K1-celler er en sublinje avledet fra CHO-cellelinjen, som opprinnelig ble etablert på begynnelsen av 1950-tallet fra eggstokken til en kinesisk hamster. CHO-K1-celler er mye brukt i produksjonen av terapeutiske monoklonale antistoffer og andre biofarmasøytiske produkter. Den utstrakte bruken av CHO-K1-celler til produksjon av biofarmasøytiske proteiner og vaksiner skyldes deres eukaryote natur, som muliggjør riktig folding, montering og posttranslasjonelle modifikasjoner som glykosylering, noe som påvirker stabiliteten, effekten og sikkerheten til de produserte proteinene.

Når det gjelder rekombinant proteinproduksjon, brukes CHO-K1-cellelinjen til å uttrykke en lang rekke proteiner, blant annet monoklonale antistoffer, vekstfaktorer, cytokiner og enzymer. Disse proteinene kan brukes i terapeutiske behandlinger, diagnostiske analyser og vaksineformuleringer.

CHO-K1-celler har en robust veksthastighet og kan tilpasses ulike dyrkingsforhold, inkludert suspensjonskulturer og adherente kulturer, noe som gjør dem svært verdifulle for bioproduksjonsprosesser i stor skala. De har en høy grad av genetisk stabilitet og brukes til utvikling av stabile cellelinjer fordi de er i stand til å amplifisere og uttrykke eksogene gener på en effektiv måte, noe som er avgjørende for å kunne produsere rekombinante proteiner med høyt utbytte.

CHO-K1-celler fra kinesisk hamster kan enkelt transfekteres med en rekke vektorer for genuttrykk, noe som muliggjør genredigering eller knockdown. Denne fleksibiliteten gjør det mulig for forskere å introdusere spesifikke gener, dempe gener eller til og med utføre målrettet genredigering ved hjelp av teknologier som CRISPR-Cas9 i CHO-K1-celler.

CHO-K1-celler fra kinesiske hamstere og CHO-celler er sentrale i bioteknologisk forskning og biofarmasøytisk produksjon, og de utgjør en allsidig plattform for studier av genfunksjon og storskala produksjon av rekombinante proteiner.

Organism

Kinesisk hamster

Tissue

Eggstokk

Applications

Denne cellelinjen er et optimalt valg for toksikologi, industriell bioteknologi og bioproduksjon.

Synonyms

CHO K1, CHOK1, CHO-celleklon K1, GM15452

Kjennetegn**Age**

Voksen

Gender

Kvinne

Morphology

Epitel-lignende

CHO-K1-celler (tilpasset til suspensjonskultur) | 60348

6

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data**Citation**

Tilpasset CHO-K1-suspensjon (Cytion-katalognummer 603486)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

CellosaurusAccession

CVCL_0214

Biomolekylære data**Virus susceptibility**

Vesikulær stomatitt (Indiana), Getah-virus Virusresistens: poliovirus 2, modoc-virus, Button Willow-virus

Reverse transcriptase

Negativ

KaryotypeKromosomfrekvensfordeling 50 celler: $2n = 22$. Stamlinjetallet er hypodiploid**Håndtering****Culture Medium**

CD CHO fra ThermoFisher, serumfritt og klart til bruk.

Supplements

L-glutamin: Tilsett slik at den endelige konsentrasjonen blir 8 mM (vanligvis 40 ml per liter av en 200 mM stamløsning) før bruk. Dette er obligatorisk for CD CHO. Tilsett antiklumpemiddel i forholdet 1:100 og HT-tilskudd i forholdet 1:100 til cellesuspensjonen.

Dissociation Reagent

Ingen

Doubling time

22 timer

Subculturing

Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celletettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på 1×10^5 celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.

CHO-K1-celler (tilpasset til suspensjonskultur) | 60348**6****Seeding density** 4×10^5 celler/ml**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturbolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C , 5 % CO_2 , fuktet atmosfære. Cellene må dyrkes på en orbitalrister i Erlenmeyer-rysteflasker med skillevegger ved 110 o/min.

CHO-K1-celler (tilpasset til suspensjonskultur) | 60348

6

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.