

CHO-K1-celler | 603480

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-vertceller.

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 | 603480

Growth properties Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation CHO-K1 (Cytion-katalognummer 603480)

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

Karyotype Kromosomfrekvensfordeling 50 celler: $2n = 22$. Stamlinjetallet er hypodiploid

Håndtering

Culture Medium Ham's F12, m: 1,0 mM stabil glutamin, m: 1,0 mM natriumpyruvat, m: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820600a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 22 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

CHO-K1-celler | 603480

Split ratio Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales

Seeding density 1×10^4 celler/cm² vil gi et sammenvokst lag på omtrent 6 dager.

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

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 dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x 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-kulturkolber; 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 % CO₂, befuktet atmosfære.

CHO-K1-celler | 603480

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

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.

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 / Genetisk profil / HLA

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.