

Komórki CHO-K1 (przystosowane do hodowli w zawiesinie)

| 603486

Informacje ogólne

Description

Komórki CHO-K1 są podlinią wywodzącą się z linii komórkowej CHO, która została pierwotnie stworzona we wczesnych latach 50. z jajnika chomika chińskiego. Komórki CHO-K1 są szeroko wykorzystywane w produkcji terapeutycznych przeciwciał monoklonalnych i innych biofarmaceutyków. Ich szerokie zastosowanie w produkcji białek biofarmaceutycznych i szczepionek przypisuje się ich eukariotycznej naturze, która pozwala na prawidłowe składanie, montaż i modyfikacje potranslacyjne, takie jak glikozylacja, co wpływa na stabilność, skuteczność i bezpieczeństwo wytwarzanych białek.

W dziedzinie produkcji białek rekombinowanych, linia komórkowa CHO-K1 jest wykorzystywana do ekspresji szerokiej gamy białek, w tym przeciwciał monoklonalnych, czynników wzrostu, cytokin i enzymów. Białka te znajdują zastosowanie w terapiach leczniczych, testach diagnostycznych i szczepionkach.

Komórki CHO-K1 wykazują wysokie tempo wzrostu i są przystosowane do różnych warunków hodowli, w tym hodowli zawiesinowych i adherentnych, co czyni je bardzo cennymi w procesach bioprodukcji na dużą skalę. Posiadają wysoki poziom stabilności genetycznej i są wykorzystywane do rozwoju stabilnych linii komórkowych, ponieważ są zdolne do skutecznej amplifikacji i ekspresji egzogennych genów, co ma kluczowe znaczenie dla produkcji wysokiej wydajności rekombinowanych białek.

Komórki chomika chińskiego CHO-K1 mogą być łatwo transfekowane różnymi wektorami do ekspresji genów, ułatwiając edycję genów lub knockdown. Ta elastyczność pozwala badaczom na wprowadzanie określonych genów, wyciszanie genów, a nawet przeprowadzanie ukierunkowanej edycji genów przy użyciu technologii takich jak CRISPR-Cas9 w komórkach gospodarza CHO-K1.

Podsumowując, komórki chomika chińskiego CHO-K1 i komórki CHO odgrywają kluczową rolę w badaniach biotechnologicznych i produkcji biofarmaceutycznej, oferując wszechstronną platformę do badania funkcji genów i produkcji białek rekombinowanych na dużą skalę.

Organism

Chiński chomik

Tissue

Jajnik

Applications

Ta linia komórkowa jest optymalnym wyborem dla toksykologii, biotechnologii przemysłowej i bioprodukcji.

Synonyms

CHO K1, CHOK1, klon komórek CHO K1, GM15452

Charakterystyka

Age

Dorosły

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do nabłonka

Komórki CHO-K1 (przystosowane do hodowli w zawiesinie)
| 603486**Growth properties**

Zawieszenie

Dane regulacyjne**Citation** Zmodyfikowana zawiesina CHO-K1 (numer katalogowy Cytion 603486)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_0214**Dane biomolekularne****Virus susceptibility** Pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana), wirus Getah Odporność na wirusy: wirus polio 2, wirus modoc, wirus Button Willow**Reverse transcriptase** Negatywny**Karyotype** Rozkład częstości chromosomów 50 komórek: $2n = 22$. Liczba linii macierzystych jest hipodiploidalna**Obsługa****Culture Medium** CD CHO firmy ThermoFisher, bez surowicy, gotowe do użycia.**Supplements** L-glutamina: przed użyciem należy dodać ją do stężenia końcowego 8 mM (zazwyczaj 40 ml na litr roztworu podstawowego o stężeniu 200 mM). Jest to obowiązkowe w przypadku komórek CD CHO. Do zawiesiny komórek należy dodać środek zapobiegający zbrylaniu się w stosunku 1:100 oraz suplement HT w stosunku 1:100.**Dissociation Reagent** Brak**Doubling time** 22 godziny**Subculturing** Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1×10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.

Komórki CHO-K1 (przystosowane do hodowli w zawiesinie)
| 603486**Seeding density** 4×10^5 komórek/ml**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO₂, atmosfera nawilżona. Komórki należy hodować na wytrząsarce orbitalnej w kolbach Erlenmeyera z przegrodami, przy prędkości 110 obr./min.

Komórki CHO-K1 (przystosowane do hodowli w zawiesinie) | 603486

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.