

Bunky CHO-K1 (prispôsobené na kultiváciu v suspenzii) | 603486**Všeobecné informácie****Description**

Bunky CHO-K1 sú sublíniou odvodenou od bunkovej línie CHO, ktorá bola pôvodne vytvorená začiatkom 50. rokov 20. storočia z vaječníkov čínskeho škrečka. Bunky CHO-K1 sa široko využívajú pri výrobe terapeutických monoklonálnych protilátok a iných biofarmaceutických výrobkov. Ich široké využitie pri výrobe biofarmaceutických proteínov a vakcín sa pripisuje ich eukaryotickej povahe, ktorá umožňuje správne skladanie, zostavovanie a posttranslačné modifikácie, ako je glykozylácia, ktorá ovplyvňuje stabilitu, účinnosť a bezpečnosť vyrábaných proteínov.

V oblasti výroby rekombinantných proteínov sa bunková línia CHO-K1 používa na expresiu širokej škály proteínov vrátane monoklonálnych protilátok, rastových faktorov, cytokínov a enzýmov. Tieto proteíny sa využívajú v terapeuticknej liečbe, diagnostických testoch a vakcínach.

Bunky CHO-K1 vykazujú vysokú rýchlosť rastu a sú prispôsobivé rôznym kultivačným podmienkam vrátane suspenzných a adherentných kultúr, vďaka čomu sú veľmi cenné pre rozsiahle bioprodukčné procesy. Majú vysokú úroveň genetickej stability a používajú sa na vývoj stabilných bunkových línií, pretože sú schopné účinne amplifikovať a exprimovať exogénne gény, čo je rozhodujúce pre výrobu vysokých výťažkov rekombinantných proteínov.

Bunky čínskeho škrečka CHO-K1 sa dajú ľahko transfikovať rôznymi vektormi na expresiu génov, čo uľahčuje úpravu alebo vyradenie génov. Táto flexibilita umožňuje výskumníkom zavádzať špecifické gény, umlčovať gény alebo dokonca vykonávať cielenú úpravu génov pomocou technológií, ako je CRISPR-Cas9 v hostiteľských bunkách CHO-K1.

Záverom možno konštatovať, že bunky čínskeho škrečka CHO-K1 a bunky CHO majú kľúčové postavenie v biotechnologickom výskume a biofarmaceutickej výrobe, pretože ponúkajú univerzálnu platformu na štúdium funkcie génov a veľkovýrobu rekombinantných proteínov.

Organism Čínsky škrečok**Tissue** Vaječník**Applications** Táto bunková línia je optimálnou voľbou pre toxikológiu, priemyselnú biotechnológiu a bioprodukciiu.**Synonyms** CHO K1, CHOK1, klon buniek CHO K1, GM15452**Charakteristika****Age** Dospelí**Gender** Ženy**Morphology** Epitelu podobné

Bunky CHO-K1 (prispôsobené na kultiváciu v suspenzii) | 603486**Growth properties**

Pozastavenie

Regulačné údaje**Citation** Upravená suspenzia CHO-K1 (katalógové číslo Cytion 603486)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_0214**Biomolekulárne údaje****Virus susceptibility** Vesikulárna stomatitída (Indiana), Getah vírus Rezistentné vírusy: poliovírus 2, modoc vírus, Button Willow vírus**Reverse transcriptase** Negatívne**Karyotype** Distribúcia frekvencie chromozómov 50 buniek: $2n = 22$. Číslo kmeňa je hypodiploidné**Spracovanie****Culture Medium** CD CHO od spoločnosti ThermoFisher, bez séra, pripravené na použitie.**Supplements** L-glutamín: pred použitím doplňte na konečnú koncentráciu 8 mM (zvyčajne 40 ml na liter 200 mM zásobného roztoku). V prípade buniek CD CHO je to povinné. Do bunkovej suspenzie pridajte prostriedok proti zhlukovaniu v pomere 1:100 a doplnok HT v pomere 1:100.**Dissociation Reagent** Žiadne**Doubling time** 22 hodín**Subculturing** Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1×10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.

Bunky CHO-K1 (prispôsobené na kultiváciu v suspenzii) | 603486

Seeding density 4×10^5 buniek/ml

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150°C , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37°C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra. Bunky sa musia kultivovať na orbitálnom trepači v Erlenmeyerových trepacích bankách s pričkami pri 110 ot./min.

Bunky CHO-K1 (prispôsobené na kultiváciu v suspenzii) | 603486

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.