

Lec1 Buňky | 305010

Obecné informace

Description

Buněčná linie Lec1 je mutovaný klon, který byl selektován na základě své rezistence vůči aglutininu z pšeničných klíčků a který pochází z rodičovského klonu CHO Pro-5. Výsledkem tohoto selekčního procesu je buněčná linie se specifickou poruchou glykosylace, charakterizovanou přítomností N-vázaných sacharidů s blokováním meziproductem Man5-GlcNAc2-Asn. Tato blokáda je způsobena absencí N-acetylglukosaminytransferázy I (GlcNAc-TI), enzymu kritického pro postup syntézy glykanů k složitějším formám. V důsledku toho se v buňkách Lec1 hromadí glykoproteiny s zkrácenými oligosacharidy typu s vysokým obsahem manózy.

Buňky Lec1 jsou neocenitelné pro studium biosyntézy glykoproteinů, zejména pro pochopení toho, jak změněná N-vázaná glykosylace ovlivňuje buněčnou funkci. Výzkumníci využívají buňky Lec1 k zkoumání vlivu glykosylace na skládání proteinů, jejich stabilitu, funkci receptorů a intracelulární transport. Tyto buňky navíc poskytují jedinečnou platformu pro studium kompartmentalizace endogenních glykoproteinů indukovaných virovou infekcí nebo transfekcí cizí DNA. Zjednodušené struktury glykanů v buňkách Lec1 je také činí ideálními pro produkci glykoproteinů, které se snáze analyzují v různých experimentálních kontextech.

Používají se především in vitro pro mechanistické studie a biotechnologické aplikace zahrnující produkci a analýzu glykoproteinů.

Organism	Čínský křeček
Tissue	Ovarium
Synonyms	CHO-Lec1, CHO Lec1, Pro-Lec1.3C, Pro-5 Lec1.3c, Pro-5WgaRI3C

Charakteristika

Age	Dospělí
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	Lec1 (katalogové číslo Cytion 305010)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029

Lec1 Buňky | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w/o: Ribonukleosidy, w/o: Deoxyribonukleosidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio 1: 2 až 1: 4

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Lec1 Buňky | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladování při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Lec1 Buňky | 305010

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.