

Lec1-celler | 305010

Generel information

Description

Lec1-cellelinjen er en mutantklon, der er udvalgt på grund af sin resistens over for hvedekimagglutinin, og som stammer fra den oprindelige CHO-klon Pro-5. Denne udvælgelsesproces resulterede i en cellelinje med en specifik glykosyleringsdefekt, der er kendetegnet ved tilstedeværelsen af N-forbundne kulhydrater med et blokeret Man5-GlcNAc2-Asn-mellemprodukt. Denne blokering skyldes fraværet af N-acetylglucosaminyltransferase I (GlcNAc-TI), et enzym, der er afgørende for fremskridtet i glykansyntesen til mere komplekse former. Som følge heraf akkumulerer Lec1-celler glykoproteiner med trunke oligosaccharider af typen med højt mannoseindhold.

Lec1-celler er uvurderlige for studiet af glykoproteinbiosyntese, især for at forstå, hvordan ændret N-bundet glykosylering påvirker cellefunktionen. Forskere anvender Lec1-celler til at undersøge glykosyleringens indvirkning på proteinfoldning, stabilitet, receptorfunktion og intracellulær transport. Derudover udgør disse celler en unik platform til at studere kompartimenteringen af endogene glykoproteiner, der induceres af virusinfektion eller transfektion med fremmed DNA. De forenklede glykanstrukturer i Lec1-celler gør dem også ideelle til produktion af glykoproteiner, der er lettere at analysere i forskellige eksperimentelle sammenhænge.

De anvendes primært in vitro til mekanistiske studier og bioteknologiske anvendelser, der involverer produktion og analyse af glykoproteiner.

Organism

Kinesisk hamster

Tissue

Æggestokkene

Synonyms

CHO-Lec1, CHO Lec1, Pro-Lec1.3C, Pro-5 Lec1.3c, Pro-5WgaRI3C

Karakteristika

Age

Voksen

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

Lec1 (Cytion-katalognummer 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Lec1-celler | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium Alpha MEM, m: 2,0 mM stabil glutamin, uden: Ribonukleosider, w/o: Deoxyribonukleosider, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 2 til 4×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræsserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Lec1-celler | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opbevaring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Lec1-celler | 305010

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.