

Lec1-Zellen | 305010

Allgemeine Informationen

Description

Die Lec1-Zelllinie ist ein mutierter Klon, der aufgrund seiner Resistenz gegen Weizenkeim-Agglutinin selektiert wurde und vom elterlichen CHO-Klon Pro-5 abstammt. Dieser Selektionsprozess führte zu einer Zelllinie mit einem spezifischen Glykosylierungsdefekt, der durch das Vorhandensein von N-gebundenen Kohlenhydraten mit einem blockierten Man5-GlcNAc2-Asn-Zwischenprodukt gekennzeichnet ist. Diese Blockade ist auf das Fehlen von N-Acetylglucosaminyltransferase I (GlcNAc-TI) zurückzuführen, einem Enzym, das für den Fortgang der Glykansynthese zu komplexeren Formen entscheidend ist. Infolgedessen reichern Lec1-Zellen Glykoproteine mit verkürzten Oligosacchariden vom Typ „High-Mannose“ an.

Lec1-Zellen sind von unschätzbarem Wert für die Erforschung der Glykoproteinbiosynthese, insbesondere für das Verständnis, wie eine veränderte N-gebundene Glykosylierung die Zellfunktion beeinflusst. Forscher nutzen Lec1-Zellen, um den Einfluss der Glykosylierung auf die Proteinfaltung, Stabilität, Rezeptorfunktion und den intrazellulären Transport zu untersuchen. Darüber hinaus bieten diese Zellen eine einzigartige Plattform für die Untersuchung der Kompartimentierung von endogenen Glykoproteinen, die durch virale Infektionen oder die Transfektion mit fremder DNA induziert werden. Die vereinfachten Glykanstrukturen in Lec1-Zellen machen sie zudem ideal für die Herstellung von Glykoproteinen, die in verschiedenen experimentellen Kontexten leichter zu analysieren sind.

Sie werden vor allem in vitro für mechanistische Studien und biotechnologische Anwendungen im Zusammenhang mit der Glykoproteinproduktion und -analyse eingesetzt.

Organism

Chinesischer Hamster

Tissue

Eierstock

Synonyms

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

Merkmale

Age

Erwachsener

Morphology

Epithelial

Growth properties

Adhärenz

Regulatorische Daten

Citation

Lec1 (Cytion Katalognummer 305010)

Biosafety level

1

Lec1-Zellen | 305010

NCBI_TaxID 10029**CellosaurusAccession** CVCL_3440**Biomolekulare Daten****Handhabung****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, ohne: Ribonukleoside, w/o: Deoxyribonukleoside, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** 1: 2 bis 1: 4**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lec1-Zellen | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Eine Lagerung bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Lec1-Zellen | 305010

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.