

## Κύτταρα Lec1 | 305010

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά Lec1 είναι ένας μεταλλαγμένος κλώνος που επιλέχθηκε λόγω της αντοχής του στην αγγλουτινίνη φύτρου σιταριού και προέρχεται από τον γονικό κλώνο CHO Pro-5. Αυτή η διαδικασία επιλογής οδήγησε στη δημιουργία μιας κυτταρικής σειράς με συγκεκριμένο ελάττωμα γλυκοζυλίωσης, το οποίο χαρακτηρίζεται από την παρουσία N-συνδεσμένων υδατανθράκων με ένα μπλοκαρισμένο ενδιάμεσο Man5-GlcNAc2-Asn. Αυτή η παρεμπόδιση οφείλεται στην απουσία της N-ακετυλογλυκοζαμινοτρανσφεράσης I (GlcNAc-TI), ενός ενζύμου κρίσιμου για την εξέλιξη της σύνθεσης γλυκανών σε πιο σύνθετες μορφές. Ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα Lec1 συσσωρεύουν γλυκοπρωτεΐνες με κολοβωμένους ολιγοσακχαρίτες τύπου υψηλής μαννόζης.

Τα κύτταρα Lec1 είναι ανεκτίμητα για τη μελέτη της βιοσύνθεσης γλυκοπρωτεϊνών, ιδιαίτερα για την κατανόηση του τρόπου με τον οποίο η αλλοιωμένη N-συνδεσμένη γλυκοζυλίωση επηρεάζει τη λειτουργία των κυττάρων. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν τα κύτταρα Lec1 για να διερευνήσουν την επίδραση της γλυκοζυλίωσης στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών, τη σταθερότητα, τη λειτουργία των υποδοχέων και την ενδοκυτταρική μεταφορά. Επιπλέον, αυτά τα κύτταρα παρέχουν μια μοναδική πλατφόρμα για τη μελέτη της διαμερισματοποίησης των ενδογενών γλυκοπρωτεϊνών που προκαλούνται από ιογενή μόλυνση ή από μεταφορά ξένου DNA. Οι απλοποιημένες δομές γλυκανών στα κύτταρα Lec1 τα καθιστούν επίσης ιδανικά για την παραγωγή γλυκοπρωτεϊνών που είναι ευκολότερο να αναλυθούν σε διάφορα πειραματικά πλαίσια.

Χρησιμοποιούνται κυρίως *in vitro* για μηχανιστικές μελέτες και βιοτεχνολογικές εφαρμογές που αφορούν την παραγωγή και ανάλυση γλυκοπρωτεϊνών.

## Organism

Κινέζικο χάμστερ

## Tissue

Ωοθήκη

## Synonyms

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

## Χαρακτηριστικά

## Age

Ενηλίκων

## Morphology

Επιθηλιακό

## Growth properties

Προσκολλημένο

## Ρυθμιστικά δεδομένα

## Citation

Lec1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305010)

## Biosafety level

1

**Κύτταρα Lec1 | 305010**

NCBI\_TaxID 10029

CellosaurusAccession CVCL\_3440

**Βιομοριακά δεδομένα****Χειρισμός****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w/o: Ριβονουκλεοζίτες, w/o: Δεοξυριβονουκλεοζίτες, w: 1,0 mM Πυρρυνικό νάτριο, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Seeding density** 2 έως 4 x 10<sup>4</sup> κύτταρα/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

## Κύτταρα Lec1 | 305010

### Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

### Shipping Conditions

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Κύτταρα Lec1 | 305010

### Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

#### **Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.