

Lec1-rakud | 305010

Üldine teave

Description

Lec1 rakuliin on mutatsioonikloon, mis on valitud välja selle vastupidavuse tõttu nisukliide aglutiniinile ning mis on saadud vanemkloonist CHO Pro-5. Selle valikuprotsessi tulemusena saadi rakuliin, millel on spetsiifiline glükosüleerimise defekt, mida iseloomustab N-seotud süsivesikute esinemine, mille vaheühend Man5-GlcNAc2-Asn on blokeeritud. See blokeerumine on tingitud N-atsetüülglükosaminüültransferaasi I (GlcNAc-TI) puudumisest, mis on ensüüm, mis on oluline glükaani sünteesi edasiliikumisel keerulisemate vormide suunas. Selle tulemusena kogunevad Lec1 rakkudesse glükoproteiinid, millel on lühendatud, kõrge mannoosisaldusega oligosahhariidid.

Lec1-rakud on hindamatud glükoproteiini biosünteesi uurimisel, eriti selleks, et mõista, kuidas muutunud N-seotud glükosüleerimine mõjutab raku funktsiooni. Teadlased kasutavad Lec1-rakke, et uurida glükosüleerimise mõju valkude kokkupakkimisele, stabiilsusele, retseptori funktsioonile ja rakusisesel transpordile. Lisaks pakuvad need rakud ainulaadset platvormi viirusinfektsiooni või võõra DNA transfektsiooni poolt indutseeritud endogeensete glükoproteiinide kompartmentaliseerumise uurimiseks. Lec1-rakkude lihtsustatud glükaanstruktuurid muudavad need ideaalseks ka selliste glükoproteiinide tootmiseks, mida on erinevates eksperimentaalsetes kontekstides lihtsam analüüsida.

Neid kasutatakse peamiselt in vitro mehhanistilisteks uuringuteks ja biotehnoloogilisteks rakendusteks, mis hõlmavad glükoproteiinide tootmist ja analüüsi.

Organism Hiina hamster

Tissue Munasarjad

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

Omadused

Age Täiskasvanud

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation Lec1 (Cytioni katalooginumber 305010)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Lec1-rakud | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w/o: Ribonukleosiidid, w/o: Deoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Lec1-rakud | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Lec1-rakud | 305010

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.