

Lec1-solut | 305010

Yleisiä tietoja

Description

Lec1-solulinja on vehnänalkioagglutiniinille resistenssinsä perusteella valittu mutanttiklooni, joka on peräisin emokloonista Pro-5. Valintaprosessin tuloksena syntyi solulinja, jolla on erityinen glykosylaatiovirhe, jolle on ominaista N-sidottujen hiilihydraattien esiintyminen, joissa Man5-GlcNAc2-Asn-väliaine on estynyt. Tämä estyminen johtuu N-asetyyli-glukosaminyylitransferaasi I:n (GlcNAc-TI) puuttumisesta, joka on entsyymi, joka on kriittinen glykaanisynteesin etenemiselle monimutkaisempiin muotoihin. Tämän seurauksena Lec1-solut kertyvät glykoproteiineja, joissa on katkaistuja, korkeammannoosittyyppisiä oligosakkarideja.

Lec1-solut ovat korvaamattomia glykoproteiinien biosynteesin tutkimuksessa, erityisesti kun halutaan ymmärtää, miten muuttunut N-sidottu glykosylaatio vaikuttaa solujen toimintaan. Tutkijat käyttävät Lec1-soluja tutkiakseen glykosylaation vaikutusta proteiinien taitumiseen, stabiiliuteen, reseptoritoimintaan ja solunsisäiseen kuljetukseen. Lisäksi nämä solut tarjoavat ainutlaatuisen alustan virusinfektion tai vieraan DNA:n transfektion aiheuttamien endogeenisten glykoproteiinien kompartmentalisoitumisen tutkimiseen. Lec1-solujen yksinkertaistetut glykaanirakenteet tekevät niistä myös ihanteellisia sellaisten glykoproteiinien tuottamiseen, joita on helpompi analysoida erilaisissa kokeellisissa yhteyksissä.

Niitä käytetään pääasiassa in vitro mekanistisissa tutkimuksissa ja bioteknologisissa sovelluksissa, joihin liittyy glykoproteiinien tuotanto ja analysointi.

Organism

Kiinalainen hamsteri

Tissue

Munasarja

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

Aikuiset

Morphology

Epiteeli

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

Lec1 (Cytion-tuotenumero 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Lec1-solut | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiili glutamiini, w/o: Ribonukleosidit, w/o: Deoksiribonukleosidit, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2g/L NaHCO ₃
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

Seeding density	2-4 x 10 ⁴ solua/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

Lec1-solut | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Lec1-solut | 305010

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.