

Lec1 sejtek | 305010

Általános információk

Description

A Lec1 sejtvonal a Pro-5 szülői CHO-klónból származó, a búzacsíra-agglutininnel szembeni rezisztenciája alapján szelektált mutáns klón. Ez a szelekciós folyamat egy olyan sejtvonalat eredményezett, amelyben specifikus glikozilációs rendellenesség figyelhető meg, melyet a blokkolt Man5-GlcNAc2-Asn köztitermékkel rendelkező N-kapcsolt szénhidrátok jelenléte jellemez. Ez a blokkolás az N-acetilglükózaminiltranszferáz I (GlcNAc-TI) hiányának tudható be, amely enzim kritikus szerepet játszik a glikánszintézis bonyolultabb formákba történő átalakulásában. Ennek eredményeként a Lec1 sejtekben csonkított, magas mannóz tartalmú oligoszacharidokat tartalmazó glikoproteinek halmozódnak fel.

A Lec1 sejtek felbecsülhetetlen értékűek a glikoprotein-bioszintézis tanulmányozásában, különösen annak megértésében, hogy a megváltozott N-kapcsolt glikoziláció hogyan befolyásolja a sejtek működését. A kutatók Lec1 sejteket használnak a glikoziláció fehérjehajtogatásra, stabilitásra, receptorfunkcióra és intracelluláris transzportra gyakorolt hatásának vizsgálatához. Ezenkívül ezek a sejtek egyedülálló platformot nyújtanak a vírusfertőzés vagy idegen DNS-transzferáció által indukált endogén glikoproteinek kompartmentalizációjának tanulmányozásához. A Lec1 sejtek egyszerűsített glikánszerkezetei miatt ideálisak olyan glikoproteinek előállítására is, amelyek különböző kísérleti kontextusokban könnyebben elemezhetők.

Elsősorban in vitro mechanisztikai vizsgálatokhoz és a glikoprotein-előállítással és -elemzéssel kapcsolatos biotechnológiai alkalmazásokhoz használják őket.

Organism Kínai hörcsög

Tissue Petefészek

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

Jellemzők

Age Felnőtt

Morphology Epithelialis

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation Lec1 (Cytion katalógusszám: 305010)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Lec1 sejtek | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabil glutamin, w/o: Ribonukleozidok, w/o: Deoxiribonukleozidok, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 2-4 x 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Lec1 sejtek | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Lec1 sejtek | 305010

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.