

Lec1 ląstelės | 305010

Bendra informacija

Description

Lec1 ląstelių linija yra mutacinis klonas, atrinktas dėl atsparumo kviečių daigų aglutininui, išvestas iš pirminio CHO klonu Pro-5. Šio atrankos proceso rezultatas – ląstelių linija su specifiniu glikozilinimo defektu, kuriam būdingas N-susietų angliavandenių buvimas su užblokuotu tarpininku Man5-GlcNAc2-Asn. Šis blokavimas atsiranda dėl N-acetilgliukozaminiltransferazės I (GlcNAc-TI) trūkumo – fermento, kuris yra labai svarbus glikanų sintezės progresavimui į sudėtingesnes formas. Dėl to Lec1 ląstelėse kaupiasi glikoproteidai su sutrumpintais, didelio manozės kiekio tipo oligosacharidais.

Lec1 ląstelės yra nepakeičiamos glikoproteinų biosintezės tyrimams, ypač siekiant suprasti, kaip pakitusi N-susietų glikozilinimas veikia ląstelių funkciją. Mokslininkai naudoja Lec1 ląsteles, kad ištirtų glikozilinimo poveikį baltymų susidarymui, stabilumui, receptorių funkcijai ir transportavimui ląstelės viduje. Be to, šios ląstelės suteikia unikalią platformą virusinės infekcijos arba svetimų DNR transfekcijos sukeltų endogeninių glikoproteinų kompartmentalizacijos tyrimams. Supaprastintos glikanų struktūros Lec1 ląstelėse taip pat leidžia jas naudoti kaip idealią terpę glikoproteinų gamybai, kuriuos lengviau analizuoti įvairiose eksperimentinėse aplinkose.

Jos daugiausia naudojamos in vitro mechanizmo tyrimams ir biotechnologiniams taikymams, susijusiems su glikoproteinų gamyba ir analize.

Organism

Kinų žiurkėnas

Tissue

Kiaušidės

Synonyms

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

Charakteristikos

Age

Suaugusiųjų

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

Lec1 (Cytion katalogo numeris 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Lec1 ląstelės | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium Alfa MEM, w: 2,0 mM stabilus glutaminas, w/o: Ribonukleozidai, w/o: Deoksiribonukleozidai, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 2-4 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Lec1 ląstelės | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Lec1 ląstelės | 305010

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.