

Lec1 šūnas | 305010

Vispārīga informācija

Description

Lec1 šūnu līnija ir mutācijas klons, kas atlasīts tā izturības dēļ pret kviešu dīgļu aglutinīnu un iegūts no vecāka CHO klona Pro-5. Šī atlases procesa rezultātā tika iegūta šūnu līnija ar specifisku glikozilācijas defektu, kam raksturīga N-saistītu ogļhidrātu klātbūtne ar bloķētu Man5-GlcNAc2-Asn starpproduktu. Šis bloķējums ir saistīts ar N-acetilglukozaminiltransferāzes I (GlcNAc-TI) trūkumu, kas ir enzīms, kas ir būtisks glikānu sintēzes attīstībai uz sarežģītākām formām. Rezultātā Lec1 šūnas uzkrāj glikoproteīnus ar saīsinātiem, augsta manozes tipa oligosaharīdiem.

Lec1 šūnas ir nenovērtējamas glikoproteīnu biosintēzes pētījumos, jo īpaši, lai izprastu, kā izmainīta N-saistītā glikozilācija ietekmē šūnu funkcijas. Pētnieki izmanto Lec1 šūnas, lai pētītu glikozilācijas ietekmi uz proteīnu salīpšanu, stabilitāti, receptoru funkciju un intracelulāro transportu. Turklāt šīs šūnas nodrošina unikālu platformu, lai pētītu vīrusu infekcijas vai ārējās DNS transfekcijas izraisītu endogēno glikoproteīnu kompartmentalizāciju. Vienkāršotās glikānu struktūras Lec1 šūnās padara tās ideālas arī tādu glikoproteīnu ražošanai, kurus ir vieglāk analizēt dažādos eksperimentālos kontekstos.

Tās galvenokārt izmanto in vitro mehānisma pētījumos un biotehnoloģiskās lietojumprogrammās, kas saistītas ar glikoproteīnu ražošanu un analīzi.

Organism

Ķīniešu kāmis

Tissue

Olnīcas

Synonyms

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

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

Lec1 (Cytion kataloga numurs 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Lec1 šūnas | 305010

CelosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleozīdi, w/o: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
-----------------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

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

Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	---

Seeding density	2 līdz 4×10^4 šūnas/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	--

Lec1 šūnas | 305010

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Lec1 šūnas | 305010

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.