

Lec1 Cellen | 305010

Algemene informatie

Description

De Lec1-cel lijn is een mutante kloon die is geselecteerd op basis van zijn resistentie tegen tarwekiemagglutinine, afkomstig van de oorspronkelijke CHO-kloon Pro-5. Dit selectieproces heeft geleid tot een cel lijn met een specifiek glycosylatiedefect, gekenmerkt door de aanwezigheid van N-gebonden koolhydraten met een geblokkeerd Man5-GlcNAc2-Asn-tussenproduct. Deze blokkade is het gevolg van de afwezigheid van N-acetylglucosamyltransferase I (GlcNAc-TI), een enzym dat cruciaal is voor de voortgang van de glycaansynthese naar complexere vormen. Als gevolg hiervan accumuleren Lec1-cellen glycoproteïnen met verkorte oligosachariden van het type met een hoog mannosegehalte.

Lec1-cellen zijn van onschatbare waarde voor de studie van glycoproteïnebiosynthese, met name voor het begrijpen hoe veranderde N-gebonden glycosylatie de celfunctie beïnvloedt. Onderzoekers gebruiken Lec1-cellen om de invloed van glycosylatie op eiwitvouwing, stabiliteit, receptorfunctie en intracellulair transport te onderzoeken. Bovendien bieden deze cellen een uniek platform voor het bestuderen van de compartimentering van endogene glycoproteïnen die worden geïnduceerd door virale infectie of transfectie met vreemd DNA. De vereenvoudigde glycaanstructuren in Lec1-cellen maken ze ook ideaal voor het produceren van glycoproteïnen die gemakkelijker te analyseren zijn in verschillende experimentele contexten.

Ze worden voornamelijk in vitro gebruikt voor mechanistische studies en biotechnologische toepassingen op het gebied van glycoproteïneproductie en -analyse.

Organism Chinese hamster

Tissue Eierstok

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

Kenmerken

Age Volwassen

Morphology Epitheel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation Lec1 (Cytion catalogusnummer 305010)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Lec1 Cellen | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w/o: Ribonucleosiden, w/o: Deoxyribonucleosiden, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1: 2 tot 1: 4

Seeding density 2 tot 4 x 10⁴ cellen/cm²

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Lec1 Cellen | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opslag bij $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Lec1 Cellen | 305010

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.