

Lec1-celler | 305010

Generell informasjon

Description

Lec1-cellelinjen er en mutantklon som er selektert på grunn av sin resistens mot hvetekimagglutinin, og stammer fra den opprinnelige CHO-klonen Pro-5. Denne seleksjonsprosessen resulterte i en cellelinje med en spesifikk glykosyleringsdefekt, preget av tilstedeværelsen av N-bundne karbohydrater med et blokkert Man5-GlcNAc2-Asn-mellomprodukt. Denne blokkeringen skyldes fraværet av N-acetylglukosaminyltransferase I (GlcNAc-TI), et enzym som er avgjørende for at glykansyntesen kan utvikle seg til mer komplekse former. Som et resultat akkumulerer Lec1-celler glykoproteiner med avkortede oligosakkarider av typen med høyt mannosinnhold.

Lec1-celler er uvurderlige for studiet av glykoproteinbiosyntese, særlig for å forstå hvordan endret N-bundet glykosylering påvirker cellefunksjonen. Forskere bruker Lec1-celler til å undersøke glykosyleringens innvirkning på proteinfolding, stabilitet, reseptorfunksjon og intracellulær transport. I tillegg gir disse cellene en unik plattform for å studere kompartimenteringen av endogene glykoproteiner induisert av virusinfeksjon eller transfeksjon av fremmed DNA. De forenklete glykanstrukturene i Lec1-celler gjør dem også ideelle for produksjon av glykoproteiner som er enklere å analysere i ulike eksperimentelle sammenhenger.

De brukes primært in vitro til mekanistiske studier og bioteknologiske anvendelser som involverer glykoproteinproduksjon og -analyse.

Organism

Kinesisk hamster

Tissue

Eggstokk

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

Voksen

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

Lec1 (Cytion katalognummer 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Lec1-celler | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekylære data**Håndtering**

Culture Medium Alpha MEM, m: 2,0 mM stabilt glutamin, uten: Ribonukleosider, m/o: Deoksyribonukleosider, m: 1,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO₃

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1: 2 til 1: 4

Seeding density 2 til 4 x 10⁴ celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Lec1-celler | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lagring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Lec1-celler | 305010

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.