

Komórki Lec1 | 305010**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Lec1 to klon mutacyjny wyselekcjonowany ze względu na odporność na aglutyninę z kietków pszenicy, wywodzący się z macierzystego klonu CHO Pro-5. Proces selekcji doprowadził do powstania linii komórkowej z określoną wadą glikozylacji, charakteryzującej się obecnością węglowodanów N-wiązanych z zablokowanym pośrednikiem Man5-GlcNAc2-Asn. Zablokowanie to wynika z braku N-acetyloglukozaminylotransferazy I (GlcNAc-TI), enzymu niezbędnego do postępu syntezy glikanów do bardziej złożonych form. W rezultacie komórki Lec1 gromadzą glikoproteiny z skróconymi oligosacharydami typu o wysokiej zawartości mannozy.

Komórki Lec1 są nieocenione w badaniach nad biosyntezą glikoprotein, szczególnie w zrozumieniu, jak zmieniona glikozylacja N-wiązana wpływa na funkcję komórki. Naukowcy wykorzystują komórki Lec1 do badania wpływu glikozylacji na fałdowanie białek, ich stabilność, funkcję receptorów oraz transport wewnątrzkomórkowy. Ponadto komórki te stanowią unikalną platformę do badania kompartmentalizacji endogennych glikoprotein indukowanych infekcją wirusową lub transfekcją obcym DNA. Uproszczone struktury glikanów w komórkach Lec1 sprawiają również, że są one idealne do produkcji glikoprotein, które łatwiej analizować w różnych kontekstach eksperymentalnych.

Są one wykorzystywane głównie in vitro do badań mechanistycznych oraz zastosowań biotechnologicznych związanych z produkcją i analizą glikoprotein.

Organism

Chiński chomik

Tissue

Jajnik

Synonyms

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

Charakterystyka**Age**

Dorosły

Morphology

Nabłonek

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne**Citation**

Lec1 (numer katalogowy Cytion 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Komórki Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w/o: Rybonukleozydy, w/o: Deoksyrybonukleozydy, w: 1.0 mM Pirogronian sodu, w: 2.2g/L NaHCO₃

Supplements Uzupetnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio 1:2 do 1:4

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki Lec1 | 305010

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.