

Celule Lec1 | 305010

Informații generale

Description

Linia celulară Lec1 este o clonă mutantă selectată pentru rezistența sa la aglutinina din germeni de grâu, derivată din clona parentală CHO Pro-5. Acest proces de selecție a dus la obținerea unei linii celulare cu un defect specific de glicozilare, caracterizat prin prezența carbohidraților legați de N cu un intermediar Man5-GlcNAc2-Asn blocat. Această blocare se datorează absenței N-acetilglucozaminiltransferazei I (GlcNAc-TI), o enzimă esențială pentru progresia sintezei glicanilor către forme mai complexe. Ca rezultat, celulele Lec1 acumulează glicoproteine cu oligozaharide trunchiate, de tipul celor cu conținut ridicat de manoză.

Celulele Lec1 sunt de neprețuit pentru studiul biosintezei glicoproteinelor, în special pentru înțelegerea modului în care glicozilarea legată de N modificată afectează funcția celulară. Cercetătorii utilizează celulele Lec1 pentru a investiga impactul glicozilării asupra plierii proteinelor, stabilității, funcției receptorilor și transportului intracelular. În plus, aceste celule oferă o platformă unică pentru studierea compartimentării glicoproteinelor endogene induse de infecția virală sau de transfecția cu ADN străin. Structurile glicane simplificate din celulele Lec1 le fac, de asemenea, ideale pentru producerea de glicoproteine care sunt mai ușor de analizat în diverse contexte experimentale.

Acestea sunt utilizate în principal in vitro pentru studii mecaniciste și aplicații biotehnologice care implică producerea și analiza glicoproteinelor.

Organism Hamster chinezesc

Tissue Ovar

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

Caracteristici

Age Adult

Morphology Epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation Lec1 (număr de catalog Cytion 305010)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Celule Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM Glutamină stabilă, w/o: Ribonucleozide, w/o: Deoxiribonucleozide, w: 1,0 mM piruvat de sodiu, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Seeding density 2 până la 4×10^4 cel^{ule}/cm²

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Celule Lec1 | 305010

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.