

Lec1-celler | 305010

Allmän information

Description

Cellinjen Lec1 är en muterad klon som har selekterats för sin resistens mot vetegroddsagglutinin och härstammar från den ursprungliga CHO-klonen Pro-5. Denna selektionsprocess resulterade i en cellinje med en specifik glykosyleringsdefekt, som kännetecknas av förekomsten av N-bundna kolhydrater med ett blockerat Man5-GlcNAc2-Asn-mellanprodukt. Denna blockering beror på frånvaron av N-acetylglukosaminyltransferas I (GlcNAc-TI), ett enzym som är avgörande för att glykansyntesen ska kunna fortsätta till mer komplexa former. Som ett resultat ackumulerar Lec1-celler glykoproteiner med trunkerade oligosackarider av typen högmannos.

Lec1-celler är ovärderliga för studiet av glykoproteinbiosyntes, särskilt för att förstå hur förändrad N-länkad glykosylering påverkar cellfunktionen. Forskare använder Lec1-celler för att undersöka glykosyleringens inverkan på proteinfällning, stabilitet, receptorfunktion och intracellulär transport. Dessutom utgör dessa celler en unik plattform för att studera kompartimenteringen av endogena glykoproteiner som inducerats av virusinfektion eller transfektion av främmande DNA. De förenklade glykanstrukturerna i Lec1-celler gör dem också idealiska för att producera glykoproteiner som är lättare att analysera i olika experimentella sammanhang.

De används främst in vitro för mekanistiska studier och biotekniska tillämpningar som involverar glykoproteinproduktion och -analys.

Organism

Kinesisk hamster

Tissue

Äggstock

Synonyms

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

Egenskaper

Age

Vuxen

Morphology

Epitelial

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation

Lec1 (Cytion katalognummer 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Lec1-celler | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekylära data**Hantering**

Culture Medium Alpha MEM, med: 2,0 mM stabilt glutamin, utan Ribonukleosider, w/o: Deoxyribonukleosider, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio 1: 2 till 1: 4

Seeding density 2 till 4×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Lec1-celler | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Förvaring vid $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Lec1-celler | 305010

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.