

Bunky Lec1 | 305010**Všeobecné informácie****Description**

Bunka Lec1 je mutovaný klon, ktorý bol selektovaný na základe svojej rezistencie voči aglutinínu z pšeničných klíčkov a pochádza z rodičovského CHO klonu Pro-5. Výsledkom tohto selekčného procesu je bunková línia so špecifickou poruchou glykozilácie, charakterizovanou prítomnosťou N-viazaných sacharidov s blokovaným medziproduktom Man5-GlcNAc2-Asn. Toto blokovanie je spôsobené absenciou N-acetylglukozamyltransferázy I (GlcNAc-TI), enzýmu kritického pre postup syntézy glykánov do zložitejších foriem. V dôsledku toho sa v bunkách Lec1 hromadia glykoproteíny s skrátenými oligosacharidmi typu s vysokým obsahom manózy.

Bunky Lec1 sú neoceniteľné pre štúdium biosyntézy glykoproteínov, najmä pre pochopenie toho, ako zmenená N-viazaná glykozilácia ovplyvňuje funkciu buniek. Výskumníci využívajú bunky Lec1 na skúmanie vplyvu glykozilácie na skladanie proteínov, ich stabilitu, funkciu receptorov a intracelulárny transport. Okrem toho tieto bunky poskytujú jedinečnú platformu na štúdium kompartmentalizácie endogénnych glykoproteínov indukovaných vírusovou infekciou alebo transfekciou cudzej DNA. Zjednodušené štruktúry glykánov v bunkách Lec1 z nich tiež robia ideálny prostriedok na produkciu glykoproteínov, ktoré sa ľahšie analyzujú v rôznych experimentálnych kontextoch.

Používajú sa predovšetkým in vitro na mechanistické štúdie a biotechnologické aplikácie zahŕňajúce produkciu a analýzu glykoproteínov.

Organism Čínsky škrečok

Tissue Vaječník

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

Charakteristika

Age Dospelí

Morphology Epitelové

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation Lec1 (katalógové číslo Cytion 305010)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Bunky Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekulárne údaje**Spracovanie**

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w/o: Ribonukleozidy, w/o: Deoxyribonukleozidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Doplňte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 2 až 4 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Bunky Lec1 | 305010

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.