

Celice Lec1 | 305010**Splošne informacije****Description**

Celična linija Lec1 je mutirani klon, izbran zaradi odpornosti proti aglutininu iz pšeničnih kalčkov, ki izhaja iz starševskega klona CHO Pro-5. Ta selekcijski postopek je privedel do celične linije s specifično motnjo v glikozilaciji, za katero je značilna prisotnost N-vezanih ogljikovodikov z blokiranim vmesnim produktom Man5-GlcNAc2-Asn. Ta blokada je posledica odsotnosti N-acetilglukozaminiltransferaze I (GlcNAc-TI), encima, ki je ključen za napredovanje sinteze glikanov v bolj kompleksne oblike. Posledica tega je, da se v celicah Lec1 kopičijo glikoproteini s skrajšanimi oligosaharidi tipa z visoko vsebnostjo mannoze.

Celice Lec1 so neprecenljive za študij biosinteze glikoproteinov, zlasti za razumevanje, kako spremenjena N-vezana glikozilacija vpliva na delovanje celic. Raziskovalci uporabljajo celice Lec1 za preučevanje vpliva glikozilacije na zlaganje beljakovin, stabilnost, delovanje receptorjev in intracelularni transport. Poleg tega te celice zagotavljajo edinstveno platformo za preučevanje kompartmentalizacije endogenih glikoproteinov, ki jih povzročijo virusne okužbe ali transfekcija tuje DNA. Poenostavljene strukture glikanov v celicah Lec1 jih naredijo idealne tudi za proizvodnjo glikoproteinov, ki jih je lažje analizirati v različnih eksperimentalnih kontekstih.

Uporabljajo se predvsem in vitro za mehanistične študije in biotehnološke aplikacije, ki vključujejo proizvodnjo in analizo glikoproteinov.

Organism

Kitajski hrček

Tissue

Jajčnik

Synonyms

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

Značilnosti**Age**

Odrasli

Morphology

Epitelijski

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki**Citation**

Lec1 (kataloška številka Cytion 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Celice Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w/o: Ribonukleozidi, w/o: NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijev piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM deoksiribonukleozidi

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 2 do 4 x 10⁴ celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Shranjevanje pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Celice Lec1 | 305010

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.