

Lec1 Hücreleri | 305010

Genel bilgi

Description

Lec1 hücre hattı, ebeveyn CHO klonu Pro-5'ten türetilmiş olup, buğday tohumu aglütininine karşı direnci nedeniyle seçilmiş bir mutant klondur. Bu seçim süreci, Man5-GlcNAc2-Asn ara ürününün bloke olmasıyla karakterize edilen, spesifik bir glikozilasyon kusuruna sahip bir hücre hattının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu tıkanma, glikan sentezinin daha karmaşık formlara ilerlemesi için kritik öneme sahip bir enzim olan N-asetilglukozaminiltransferaz I'in (GlcNAc-TI) yokluğundan kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, Lec1 hücreleri, kesik, yüksek mannoz tipi oligosakkaritlere sahip glikoproteinler biriktirir.

Lec1 hücreleri, glikoprotein biyosentezinin incelenmesi, özellikle de değişmiş N-bağlı glikozilasyonun hücre fonksiyonunu nasıl etkilediğinin anlaşılması açısından paha biçilmez bir değere sahiptir. Araştırmacılar, glikozilasyonun protein katlanması, stabilitesi, reseptör fonksiyonu ve hücre içi trafiği üzerindeki etkisini araştırmak için Lec1 hücrelerini kullanmaktadır. Ayrıca, bu hücreler, viral enfeksiyonun veya yabancı DNA transfeksiyonunun neden olduğu endojen glikoproteinlerin kompartmanlaşmasını incelemek için eşsiz bir platform sunmaktadır. Lec1 hücrelerindeki basitleştirilmiş glikan yapıları, bu hücreleri çeşitli deneysel bağlamlarda analizi daha kolay olan glikoproteinlerin üretimi için ideal hale getirmektedir.

Bu hücreler, öncelikle glikoprotein üretimi ve analizini içeren mekanistik çalışmalar ve biyoteknolojik uygulamalar için in vitro olarak kullanılır.

Organism

Çin hamsteri

Tissue

Yumurtalık

Synonyms

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

Özellikler

Age

Yetişkin

Morphology

Epitelyal

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

Lec1 (Cytion katalog numarası 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Lec1 Hücreleri | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Biyomoleküler Veriler

Elleçleme

Culture Medium Alfa MEM, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w/o: Ribonükleozitler, w/o: Deoksiribonükleozitler, w: 1.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.2g/L NaHCO₃

Supplements Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density 2 ila 4×10^4 hücre/cm²

Fluid renewal haftada 2 ila 3 kez

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Lec1 Hücreleri | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Lec1 Hücreleri | 305010

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.