

Клітини Lec1 | 305010

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія Lec1 — це мутантний клон, відібраний за стійкість до аглютиніну зародків пшениці, отриманий від батьківського клону CHO Pro-5. У результаті цього селекційного процесу було отримано клітинну лінію зі специфічним дефектом глікозилювання, що характеризується наявністю N-зв'язаних вуглеводів із заблокованим проміжним сполученням Man5-GlcNAc2-Asn. Ця блокада зумовлена відсутністю N-ацетилглюкозамінілтрансферази I (GlcNAc-TI) — ферменту, який відіграє вирішальну роль у просуванні синтезу гліканів до більш складних форм. Як наслідок, клітини Lec1 накопичують глікопротеїни з укороченими олігосахаридами типу з високим вмістом манози.

Клітини Lec1 є надзвичайно цінними для дослідження біосинтезу глікопротеїнів, особливо для розуміння того, як змінена N-пов'язана глікозиляція впливає на функцію клітин. Дослідники використовують клітини Lec1 для вивчення впливу глікозилювання на згортання білків, їх стабільність, функцію рецепторів та внутрішньоклітинний транспорт. Крім того, ці клітини забезпечують унікальну платформу для вивчення компартменталізації ендогенних глікопротеїнів, індукованих вірусною інфекцією або трансфекцією чужорідної ДНК. Спрощені структури гліканів у клітинах Lec1 також роблять їх ідеальними для виробництва глікопротеїнів, які легше аналізувати в різних експериментальних умовах.

Вони в основному використовуються *in vitro* для механістичних досліджень та біотехнологічних застосувань, пов'язаних із виробництвом та аналізом глікопротеїнів.

Organism

Китайський хом'як

Tissue

Яєчник

Synonyms

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

Характеристики

Age

Дорослий

Morphology

Епітеліальний

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

Lec1 (номер у каталозі Cytion 305010)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

Клітини Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium Альфа MEM, w: 2,0 мМ стабільного глутаміну, w/o: Рибонуклеозиди, без вмісту Дезоксирибонуклеозиди, w: 1,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO₃

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density Від 2 до 4 x 10⁴ клітин /см²

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Клітини Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Клітини Lec1 | 305010

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.