

Cellules Lec1 | 305010**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire Lec1 est un clone mutant sélectionné pour sa résistance à l'agglutinine de germe de blé, dérivé du clone CHO parental Pro-5. Ce processus de sélection a abouti à une lignée cellulaire présentant un défaut spécifique de glycosylation, caractérisé par la présence de glucides N-liés avec un intermédiaire Man5-GlcNAc2-Asn bloqué. Ce blocage est dû à l'absence de N-acétylglucosaminyltransférase I (GlcNAc-TI), une enzyme essentielle à la progression de la synthèse des glycanes vers des formes plus complexes. En conséquence, les cellules Lec1 accumulent des glycoprotéines comportant des oligosaccharides tronqués de type à haute teneur en mannose.

Les cellules Lec1 sont d'une valeur inestimable pour l'étude de la biosynthèse des glycoprotéines, en particulier pour comprendre comment une glycosylation N-liée altérée affecte la fonction cellulaire. Les chercheurs utilisent les cellules Lec1 pour étudier l'impact de la glycosylation sur le repliement des protéines, leur stabilité, la fonction des récepteurs et le trafic intracellulaire. De plus, ces cellules constituent une plateforme unique pour étudier la compartimentation des glycoprotéines endogènes induites par une infection virale ou par la transfection d'ADN étranger. Les structures glycanes simplifiées des cellules Lec1 les rendent également idéales pour la production de glycoprotéines plus faciles à analyser dans divers contextes expérimentaux.

Elles sont principalement utilisées in vitro pour des études mécanistiques et des applications biotechnologiques impliquant la production et l'analyse de glycoprotéines.

Organism Hamster chinois**Tissue** Ovaire**Synonyms** CHO-Lec1, CHO Lec1, Pro-Lec1.3C, Pro-5 Lec1.3c, Pro-5WgaRI3C**Caractéristiques****Age** Adulte**Morphology** Épithéliale**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** Lec1 (numéro de catalogue Cytion 305010)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029

Cellules Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Données biomoléculaires**Manipulation**

Culture Medium Alpha MEM, w : 2.0 mM stable Glutamine, w/o : Ribonucléosides, w/o : Désoxyribonucléosides, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium, w : 2.2g/L NaHCO₃

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio 1 : 2 à 1 : 4

Seeding density 2 à 4 x 10⁴ cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196°C environ. Le stockage à -80°C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules Lec1 | 305010

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.