

Células Lec1 | 305010

Informações gerais

Description

A linha celular Lec1 é um clone mutante selecionado pela sua resistência à aglutinina do gérmen de trigo, derivado do clone CHO parental Pro-5. Este processo de seleção resultou numa linha celular com um defeito específico de glicosilação, caracterizado pela presença de carboidratos ligados a N com um intermediário Man5-GlcNAc2-Asn bloqueado. Este bloqueio deve-se à ausência de N-acetilglucosamiltransferase I (GlcNAc-TI), uma enzima essencial para a progressão da síntese de glicanos para formas mais complexas. Como resultado, as células Lec1 acumulam glicoproteínas com oligossacarídeos truncados do tipo de alto teor de manose.

As células Lec1 são inestimáveis para o estudo da biossíntese de glicoproteínas, particularmente para compreender como a glicosilação ligada a N alterada afeta a função celular. Os investigadores utilizam as células Lec1 para investigar o impacto da glicosilação no dobramento das proteínas, na estabilidade, na função dos recetores e no tráfego intracelular. Além disso, estas células proporcionam uma plataforma única para estudar a compartimentação de glicoproteínas endógenas induzidas por infeção viral ou por transfecção de ADN estranho. As estruturas glicânicas simplificadas nas células Lec1 também as tornam ideais para a produção de glicoproteínas que são mais fáceis de analisar em vários contextos experimentais.

São utilizadas principalmente in vitro para estudos mecanísticos e aplicações biotecnológicas que envolvem a produção e análise de glicoproteínas.

Organism Hamster chinês

Tissue Ovário

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

Caraterísticas

Age Adulto

Morphology Epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation Lec1 (número de catálogo Cytion 305010)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Células Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium MEM alfa, com: Glutamina estável a 2,0 mM, sem: Ribonucleósidos, s/: Desoxirribonucleósidos, u: 1,0 mM Piruvato de sódio, u: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1: 2 a 1: 4

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células Lec1 | 305010

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.