

Cellules Lec1 | 305010**Renseignements généraux****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 comportant 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. Par conséquent, 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 transport 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 glycaniques simplifiées des cellules Lec1 en font également des modèles idéaux 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

Épithélial

Growth properties

Adeptes

Données réglementaires**Citation**

Lec1 (numéro de catalogue Cytion 305010)

Biosafety level

1

Cellules Lec1 | 305010

NCBI_TaxID 10029

CellosaurusAccession CVCL_3440

Données biomoléculaires**Manipulation****Culture Medium** Alpha MEM, contenant : 2,0 mM de glutamine stable, sans : ribonucléosides, sans : désoxyribonucléosides, contenant : 1,0 mM de pyruvate de sodium, contenant : 2,2 g/L de NaHCO₃**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Seeding density** de 2 à 4 × 10⁴ cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

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

Cellules Lec1 | 305010

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

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

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.