

Células Lec1 | 305010**Informações gerais****Description**

A linhagem celular Lec1 é um clone mutante selecionado por sua resistência à aglutinina do gérmen de trigo, derivada do clone CHO parental Pro-5. Esse processo de seleção resultou em uma linhagem celular com um defeito específico de glicosilação, caracterizada pela presença de carboidratos ligados a N com um intermediário Man5-GlcNAc2-Asn bloqueado. Esse bloqueio se deve à ausência da 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 rico em manose.

As células Lec1 são inestimáveis para o estudo da biossíntese de glicoproteínas, particularmente para compreender como a glicosilação N-ligada alterada afeta a função celular. Pesquisadores utilizam células Lec1 para investigar o impacto da glicosilação no dobramento de proteínas, na estabilidade, na função dos receptores e no tráfego intracelular. Além disso, essas células oferecem uma plataforma única para o estudo da compartimentação de glicoproteínas endógenas induzidas por infecção viral ou por transfecção de DNA estranho. As estruturas glicânicas simplificadas nas células Lec1 também as tornam ideais para a produção de glicoproteínas mais fáceis de analisar em diversos contextos experimentais.

Elas são utilizadas principalmente in vitro para estudos mecanísticos e aplicações biotecnológicas envolvendo 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

Características

Age Adulto

Morphology Epithelial

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation Lec1 (número de catálogo da Cytion 305010)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Células Lec1 | 305010

CellosaurusAccession CVCL_3440

Dados biomoleculares**Manuseio**

Culture Medium Alpha MEM, contendo: 2,0 mM de glutamina estável, sem: ribonucleosídeos, sem: desoxirribonucleosídeos, contendo: 1,0 mM de piruvato de sódio, contendo: 2,2 g/L de NaHCO₃

Supplements Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 2 a 4 x 10⁴ células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

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

Células Lec1 | 305010

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células Lec1 | 305010

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.