PLAT-E

305855

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Plat-E (Platinum-E) е клетъчна линия за опаковане на ретровируси, създадена на базата на човешки ембрионални бъбречни клетки 293T. Тя е разработена с цел да предостави стабилна и ефективна система за временно производство на екотропни ретровируси с висок титър. Клетъчната линия е конструирана с помощта на нови конструкции за опаковане, при които експресията на вирусните структурни гени – gag-pol и env – се управлява от човешкия EF1α промотор, който е значително по-мощен в 293T клетките, отколкото конвенционалният MuLV промотор с дълъг терминален повторен елемент (LTR). Този дизайн осигурява стабилна транскрипционна активност и поддържа високо ниво на производство на вирусните компоненти, необходими за ефективното сглобяване и опаковане на ретровируса.
Клетките Plat-E бяха генерирани чрез последователна стабилна трансфекция на конструкциите pEnv-IRES-puror и pGag-pol-IRES-bsr, които свързват вирусните гени с маркери за антибиотична резистентност чрез вътрешни сайтове за влизане в рибозомата (IRES). Тази конфигурация гарантира, че само клетките, експресиращи есенциалните вирусни гени, придобиват антибиотична резистентност, което позволява селекция на субклони с висока експресия. Получената линия Plat-E последователно произвежда ретровируси с титри до 1 × 10^7 инфекциозни единици на милилитър в продължение на поне четири месеца, когато се култивира при двойна селекция с пуромицин и бластицидин. Анализи чрез Northern blot, обратна транскриптазна активност и проточна цитометрия потвърдиха, че Plat-E проявява значително по-висока експресия на gag-pol и env в сравнение с предшестващи линии за опаковане като Bosc23 и Phoenix-E.
Архитектурата на Plat-E минимизира риска от генериране на ретровирус, способен на репликация (RCR), като ограничава опаковъчните конструкции само до необходимите кодиращи региони на вирусните структурни гени и ги разделя на различни плазмиди. Този дизайн изисква поне три рекомбинационни събития за производството на RCR, като по този начин повишава биологичната безопасност. Plat-E се е доказал като полезен в приложения за генен трансфер, включително ефективна трансдукция на първични клетки като Т-клетки и мастоцити. Неговата производителност и дългосрочна стабилност го правят надеждна платформа за производство на ретровирусни вектори както в фундаменталните изследвания, така и в предклиничното разработване на генна терапия.

Тъкан	Бъбрек на плода

Синоними

- Platinum-E

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Женски
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

GMO-S1: This retroviral packaging cell line (PLAT-E) contains constructs encoding gag-pol and env under EF1α promoter control, supporting production of ecotropic retroviral particles. The modifications are stably present in HEK293T-derived cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Ниво на биологична безопасност	1

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

PLAT-E (каталожен номер на Cytion 305855)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_B488

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS

Реагент за дисоциация	Accutase
Плътност на засяването	от 1 до 4 × 10^4 клетки/cm^2
Обновяване на течността	2 до 3 пъти седмично

Размразяване и култивиране

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	Плод

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Отказ от отговорност

Нашите клетки се предоставят изключително за целите на лабораторни изследвания in vitro и не са предназначени за клинична или диагностична употреба, нито да се прилагат на хора или да се използват за ветеринарни цели. Потребителите трябва да се придържат към всички приложими насоки и разпоредби за боравене и използване на тези клетки в изследователска среда.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Необходимо е споразумение за прехвърляне на материали	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB