PLAT-E

305855

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Plat-E (Platinum-E) je buněčná linie pro balení retrovirů, která byla vyvinuta na bázi lidských embryonálních ledvinových buněk 293T. Byla vyvinuta s cílem poskytnout stabilní a účinný systém pro přechodnou produkci ekotropních retrovirů s vysokým titrem. Buněčná linie byla vytvořena pomocí nových konstrukcí pro balení, ve kterých je exprese virových strukturálních genů – gag-pol a env – řízena lidským promotorem EF1α, který je v buňkách 293T podstatně účinnější než konvenční promotor MuLV s dlouhým terminálním opakováním (LTR). Tento design zajišťuje robustní transkripční aktivitu a podporuje vysokou úroveň produkce virových komponent nezbytných pro účinnou sestavu a balení retrovirů.
Buňky Plat-E byly vygenerovány postupnou stabilní transfekcí konstruktů pEnv-IRES-puror a pGag-pol-IRES-bsr, které propojují virové geny s markery antibiotické rezistence prostřednictvím interních ribozomových vstupních míst (IRES). Tato konfigurace zaručuje, že pouze buňky exprimující esenciální virové geny získají také antibiotickou rezistenci, což umožňuje selekci subklonů s vysokou expresí. Výsledná linie Plat-E konzistentně produkuje retroviry s titry až 1 × 10^7 infekčních jednotek na mililitr po dobu nejméně čtyř měsíců při kultivaci v duální selekci s puromycinem a blasticidinem. Analýzy Northern blot, aktivity reverzní transkriptázy a průtokové cytometrie potvrdily, že Plat-E vykazuje významně vyšší expresi gag-pol a env než předchozí balicí linie, jako jsou Bosc23 a Phoenix-E.
Architektura Plat-E minimalizuje riziko vzniku replikačně kompetentního retroviru (RCR) tím, že omezuje balicí konstrukty pouze na nezbytné kódující oblasti virových strukturálních genů a odděluje je na různé plazmidy. Tento design vyžaduje alespoň tři rekombinační události k produkci RCR, čímž zvyšuje biologickou bezpečnost. Plat-E se osvědčil v aplikacích genového přenosu, včetně účinné transdukce primárních buněk, jako jsou T buňky a žírné buňky. Jeho výkon a dlouhodobá stabilita z něj činí spolehlivou platformu pro produkci retrovirových vektorů jak v základním výzkumu, tak v předklinickém vývoji genové terapie.

Tkáň	Fetální ledvina

Synonyma

- Platinum-E

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Žena
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

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.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

IDENTIFIKÁTORY

Citace

PLAT-E (katalogové číslo Cytion 305855)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B488

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

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

Disociační činidlo	Accutase
Hustota výsevu	1 až 4 × 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2 až 3krát týdně

Rozmrazování a kultivace

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	Plod

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Prohlášení o vyloučení odpovědnosti

Naše buňky jsou poskytovány výhradně pro účely laboratorního výzkumu in vitro a nejsou určeny pro klinické nebo diagnostické použití, ani nejsou určeny k podávání lidem nebo použití pro veterinární účely. Uživatelé musí dodržovat všechny platné pokyny a předpisy pro zacházení s těmito buňkami a jejich použití ve výzkumném prostředí.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Je nutná smlouva o převodu materiálu	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