PLAT-E

305855

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

Plat-E (Platinum-E) on retroviiruste pakkimiseks mõeldud rakuliin, mis on loodud inimese embrüonaalsete neerurakkude 293T rakuliini baasil. See töötati välja, et pakkuda stabiilset ja tõhusat süsteemi kõrge tiitriga ekotroopsete retroviiruste ajutiseks tootmiseks. Rakuliin konstrueeriti uudsete pakkimiskonstruktide abil, milles viiruse struktuurigeenide – gag-pol ja env – ekspressiooni juhib inimese EF1α promootor, mis on 293T-rakkudes oluliselt tugevam kui tavapärane MuLV pikk terminaalne kordus (LTR) promootor. Selline disain tagab tugeva transkriptsioonilise aktiivsuse ja toetab retroviiruse tõhusaks kokkupanekuks ja pakkimiseks vajalike viiruskomponentide kõrgetasemelist tootmist.
Plat-E rakud loodi pEnv-IRES-puror ja pGag-pol-IRES-bsr konstruktide järjestikuse stabiilse transfektsiooni teel, mis ühendavad viirusgeenid antibiootikumiresistentsuse markeritega sisemiste ribosomaalsete sisenemiskohtade (IRES) kaudu. See konfiguratsioon tagab, et ainult olulisi viirusgeene ekspresseerivad rakud omandavad ka antibiootikumiresistentsuse, võimaldades kõrge ekspressiooniga subkloonide selektsiooni. Saadud Plat-E liin toodab järjepidevalt retroviiruseid tiitriga kuni 1 × 10^7 nakkusohtlikku ühikut milliliitri kohta vähemalt nelja kuu jooksul, kui neid kasvatatakse puromütsiini ja blastitsidiini kahekomponentsel selektsioonil. Northern blot, pöördtranskriptaasi aktiivsuse ja voolutsütomeetria analüüsid kinnitasid, et Plat-E-l on märkimisväärselt kõrgem gag-pol ja env ekspressioon kui eelkäijatel, nagu Bosc23 ja Phoenix-E.
Plat-E arhitektuur minimeerib replikatsioonivõimelise retroviiruse (RCR) tekkimise riski, piirates pakkimiskonstruktsioone ainult viiruse struktuurigeenide vajalike kodeerivate piirkondadega ja eraldades need erinevatele plasmiididele. See disain nõuab RCR-i tootmiseks vähemalt kolme rekombinatsioonisündmust, parandades seeläbi bioloogilist ohutust. Plat-E on osutunud kasulikuks geenisiirde rakendustes, sealhulgas T-rakkude ja nuumrakkude tõhusas transduktsioonis. Selle toimivus ja pikaajaline stabiilsus teevad sellest usaldusväärse platvormi retroviirusvektorite tootmiseks nii alusuuringutes kui ka prekliinilises geeniteraapia arenduses.

Kude	Loote neer

Sünonüümid

- Platinum-E

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Naine
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

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.

Bioloogilise ohutuse tase	1

TUNNUSED

Viide

PLAT-E (Cytioni kataloginumber 305855)

NCBI maksukood	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

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase
Külvitihedus	1–4 × 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	2 kuni 3 korda nädalas

Sulatamine ja kasvatamine

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.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	Loote

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Vastutuse välistamine

Meie rakud on ette nähtud üksnes in vitro laboratoorseks uurimistööks ning need ei ole mõeldud kliiniliseks või diagnostiliseks kasutamiseks, samuti ei tohi neid manustada inimestele ega kasutada veterinaarsetel eesmärkidel. Kasutajad peavad järgima kõiki kohaldatavaid suuniseid ja eeskirju nende rakkude käitlemise ja kasutamise kohta teadusuuringutes.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes