PLAT-E

305855

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Plat-E (Platinum-E) on retrovirusten pakkaussolulinja, joka on kehitetty ihmisen alkion munuaisperäisistä 293T-soluista. Se on kehitetty tarjoamaan vakaa ja tehokas järjestelmä korkeatitteristen, ekotrooppisten retrovirusten tilapäiseen tuotantoon. Solulinja rakennettiin käyttämällä uusia pakkausrakenteita, joissa viruksen rakennegeenien – gag-pol ja env – ilmentymistä ohjaa ihmisen EF1α-promoottori, joka on huomattavasti tehokkaampi 293T-soluissa kuin perinteinen MuLV:n pitkä terminaalinen toistojakso (LTR) -promoottori. Tämä rakenne takaa vahvan transkriptioaktiivisuuden ja tukee tehokkaaseen retroviruksen kokoamiseen ja pakkaamiseen tarvittavien viruskomponenttien korkeatasoista tuotantoa.
Plat-E-solut tuotettiin peräkkäisellä vakaalla transfektiolla pEnv-IRES-puror- ja pGag-pol-IRES-bsr-rakenteilla, jotka yhdistävät virusgeenit antibioottiresistenssimarkkereihin sisäisten ribosomien sisäänpääsykohdien (IRES) kautta. Tämä kokoonpano takaa, että vain solut, jotka ilmentävät välttämättömiä virusgeenejä, saavat myös antibioottiresistenssin, mikä mahdollistaa korkean ilmentymistason alikloonien valinnan. Tuloksena oleva Plat-E-linja tuottaa johdonmukaisesti retroviruksia, joiden tiitteri on jopa 1 × 10^7 infektiivistä yksikköä millilitrassa vähintään neljän kuukauden ajan, kun niitä viljellään puromysiinin ja blasticidiinin kaksoisseulonnassa. Northern blot-, käänteiskopioijaentsyymiaktiivisuus- ja virtaussytometria-analyysit vahvistivat, että Plat-E:llä on merkittävästi korkeampi gag-pol- ja env-ilmentyminen kuin edeltäjillä, kuten Bosc23- ja Phoenix-E-pakkauslinjoilla.
Plat-E:n rakenne minimoi replikaatiokykyisen retroviruksen (RCR) syntymisen riskin rajoittamalla pakkauskonstruktit vain viruksen rakennegeenien välttämättömiin koodausalueisiin ja erottamalla ne eri plasmideihin. Tämä rakenne vaatii vähintään kolme rekombinaatiotapahtumaa RCR:n tuottamiseksi, mikä parantaa bioturvallisuutta. Plat-E on osoittautunut hyödylliseksi geeninsiirtosovelluksissa, mukaan lukien T-solujen ja syöttösolujen kaltaisten primaarisolujen tehokas transduktio. Sen suorituskyky ja pitkäaikainen stabiilius tekevät siitä luotettavan alustan retrovirusvektoreiden tuotantoon sekä perustutkimuksessa että prekliinisessä geeniterapian kehityksessä.

Kudos	Sikiön munuainen

Synonyymit

- Platinum-E

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	1

TUNNISTEET

Lähdeviite

PLAT-E (Cytion-tuotenumero 305855)

NCBI-verotunnus	9606

Cellosaurus	CVCL_B488

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	Accutase
Kylvötiheys	1–4 × 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	Sikiö

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Vastuuvapauslauseke

Solujamme tarjotaan yksinomaan in vitro -laboratoriotutkimustarkoituksiin, eikä niitä ole tarkoitettu kliiniseen tai diagnostiseen käyttöön, eikä niitä saa antaa ihmisille tai käyttää eläinlääkinnällisiin tarkoituksiin. Käyttäjien on noudatettava kaikkia sovellettavia ohjeita ja määräyksiä, jotka koskevat näiden solujen käsittelyä ja käyttöä tutkimusympäristössä.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes