PLAT-E

305855

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

A Plat-E (Platinum-E) egy retrovírus-csomagoló sejtvonal, amelyet emberi embrionális vese 293T sejtekből alakítottak ki. Fejlesztésének célja egy stabil és hatékony rendszer biztosítása volt a magas titerű, ekotróp retrovírusok átmeneti előállításához. A sejtvonalat olyan újszerű csomagoló konstrukciók felhasználásával hozták létre, amelyekben a vírus szerkezeti génjeinek – gag-pol és env – expresszióját a humán EF1α promóter vezérli, amely a 293T sejtekben lényegesen hatékonyabb, mint a hagyományos MuLV hosszú terminális ismétlődés (LTR) promóter. Ez a kialakítás biztosítja a robusztus transzkripciós aktivitást, és támogatja a hatékony retrovírus-összeszereléshez és -csomagoláshoz szükséges víruskomponensek magas szintű előállítását.
A Plat-E sejteket a pEnv-IRES-puror és a pGag-pol-IRES-bsr konstrukciók egymást követő, stabil transzfekciójával állítottuk elő, amelyek a vírusgéneket belső riboszómabehatolási helyek (IRES) segítségével kapcsolják össze az antibiotikum-rezisztencia markerekkel. Ez a konfiguráció garantálja, hogy csak azok a sejtek szerezzenek antibiotikum-rezisztenciát, amelyek a nélkülözhetetlen vírusgéneket expresszálják, lehetővé téve a magas expressziójú szubklónok szelekcióját. Az így kapott Plat-E vonal puromicin és blasticidin kettős szelekciója mellett tenyésztve legalább négy hónapig következetesen termel retrovírusokat, amelyek titerje milliliterenként akár 1×10^7 fertőző egység is lehet. Northern blot, reverz transzkriptáz aktivitás és áramlási citometriai elemzések megerősítették, hogy a Plat-E szignifikánsan magasabb gag-pol és env expressziót mutat, mint az elődcsomagoló vonalak, például a Bosc23 és a Phoenix-E.
A Plat-E felépítése minimalizálja a replikációra képes retrovírus (RCR) keletkezésének kockázatát azáltal, hogy a csomagoló konstrukciókat a vírus szerkezeti gének szükséges kódoló régióira korlátozza, és azokat különböző plazmidokra osztja szét. Ez a kialakítás legalább három rekombinációs eseményt igényel az RCR előállításához, ezáltal növelve a biológiai biztonságot. A Plat-E hasznosnak bizonyult génátviteli alkalmazásokban, beleértve az elsődleges sejtek, például a T-sejtek és a hízósejtek hatékony transzdukcióját. Teljesítménye és hosszú távú stabilitása megbízható platformmá teszi a retrovirális vektorok előállításához mind az alapkutatásban, mind a preklinikai génterápiás fejlesztésben.

Szövet	Magzati vese

Szinonimák

- Platinum-E

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Nő
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	1

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

PLAT-E (Cytion katalógusszám: 305855)

NCBI adóazonosító szám	9606

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

Cellosaurus	CVCL_B488

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Diszociációs reagens	Accutase
Ültetési sűrűség	1–4 × 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	Magzat

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Jogi nyilatkozat

Sejtjeinket kizárólag in vitro laboratóriumi kutatási célokra bocsátjuk rendelkezésre, és nem szánjuk klinikai vagy diagnosztikai felhasználásra, nem adhatóak be embereknek, és nem használhatók fel állatorvosi célokra. A felhasználóknak be kell tartaniuk a sejtek kutatási környezetben történő kezelésére és felhasználására vonatkozó valamennyi vonatkozó irányelvet és előírást.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Anyagátadási megállapodás szükséges	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