PLAT-E

305855

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

Plat-E (Platinum-E) è una linea cellulare di impacchettamento retrovirale ottenuta a partire dalla linea cellulare renale embrionale umana 293T. È stata sviluppata per fornire un sistema stabile ed efficiente per la produzione transitoria di retrovirus ecotropici ad alto titolo. La linea cellulare è stata costruita utilizzando nuovi costrutti di impacchettamento in cui l'espressione dei geni strutturali virali - gag-pol ed env - è guidata dal promotore EF1α umano, che è sostanzialmente più potente nelle cellule 293T rispetto al promotore convenzionale a ripetizione terminale lunga (LTR) del MuLV. Questo design garantisce una robusta attività trascrizionale e supporta la produzione ad alto livello dei componenti virali necessari per l'efficiente assemblaggio e impacchettamento del retrovirus.
Le cellule Plat-E sono state generate tramite trasfezione stabile sequenziale dei costrutti pEnv-IRES-puror e pGag-pol-IRES-bsr, che collegano i geni virali a marcatori di resistenza agli antibiotici tramite siti interni di ingresso nel ribosoma (IRES). Questa configurazione garantisce che solo le cellule che esprimono i geni virali essenziali acquisiscano anche la resistenza agli antibiotici, consentendo la selezione di sottocloni ad alta espressione. La linea Plat-E risultante produce costantemente retrovirus con titoli fino a 1×10^7 unità infettive per millilitro per almeno quattro mesi quando coltivata in doppia selezione con puromicina e blasticidina. Analisi Northern blot, dell'attività della trascrittasi inversa e di citometria a flusso hanno confermato che Plat-E mostra un'espressione di gag-pol ed env significativamente più elevata rispetto alle linee di confezionamento precedenti, come Bosc23 e Phoenix-E.
L'architettura di Plat-E riduce al minimo il rischio di generare retrovirus a capacità di replicazione (RCR) limitando i costrutti di packaging alle sole regioni codificanti necessarie dei geni strutturali virali e separandoli su plasmidi diversi. Questo design richiede almeno tre eventi di ricombinazione per produrre RCR, migliorando così la biosicurezza. Plat-E si è dimostrato utile nelle applicazioni di trasferimento genico, compresa l'efficiente trasduzione di cellule primarie come i linfociti T e i mastociti. Le sue prestazioni e la sua stabilità a lungo termine lo rendono una piattaforma affidabile per la produzione di vettori retrovirali sia nella ricerca di base che nello sviluppo preclinico della terapia genica.

Tessuto	Rene fetale

Sinonimi

- Platinum-E

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli OGM

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.

Livello di biosicurezza	1

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

PLAT-E (codice catalogo Cytion 305855)

Codice fiscale NCBI	9606

Cellosaurus	CVCL_B488

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820700a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Reagente di dissociazione	Accutase
Densità di semina	da 1 a 4 × 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	Feto

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Dichiarazione di non responsabilità

Le nostre cellule sono fornite esclusivamente per scopi di ricerca di laboratorio in vitro e non sono destinate all'uso clinico o diagnostico, né devono essere somministrate all'uomo o utilizzate per scopi veterinari. Gli utenti devono attenersi a tutte le linee guida e le normative applicabili per la manipolazione e l'uso di queste cellule in un contesto di ricerca.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

È richiesto un accordo di trasferimento di materiale	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