PLAT-E

305855

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

„Plat-E“ (Platinum-E) – tai retrovirusų pakavimo ląstelių linija, sukurta remiantis žmogaus embrioninių inkstų 293T ląstelių pagrindu. Ji buvo sukurta siekiant užtikrinti stabilią ir veiksmingą sistemą, skirtą didelio titro ekotropinių retrovirusų laikiniam gamybai. Ląstelių linija buvo sukurta naudojant naujus pakavimo konstruktus, kuriuose virusinių struktūrinių genų – gag-pol ir env – ekspresiją skatina žmogaus EF1α promotorius, kuris 293T ląstelėse yra žymiai galingesnis nei įprastas MuLV ilgojo terminalo pasikartojimo (LTR) promotorius. Ši konstrukcija užtikrina tvirtą transkripcinę veiklą ir palaiko aukšto lygio virusinių komponentų, būtinų efektyviam retrovirusų surinkimui ir pakavimui, gamybą. Plat-E ląstelės buvo sukurtos nuosekliai stabiliai transfekuojant pEnv-IRES-puror ir pGag-pol-IRES-bsr konstrukcijas, kurios per vidinius ribosomų įėjimo taškus (IRES) susieja virusinius genus su antibiotikų atsparumo žymekliais. Ši konfigūracija garantuoja, kad tik ląstelės, ekspresuojančios esminius virusinius genus, taip pat įgyja atsparumą antibiotikams, leidžiant atrinkti subklonus, pasižyminčius didele ekspresija. Gauta Plat-E linija nuosekliai gamina retrovirusus, kurių titras siekia iki 1×10^7 infekcinių vienetų mililitre bent keturis mėnesius, kai kultivuojama dvigubo atrankos su puromicinu ir blasticidinu sąlygomis. Northern blot, atvirkštinės transkriptazės aktyvumo ir srauto citometrijos analizės patvirtino, kad Plat-E pasižymi žymiai didesne gag-pol ir env ekspresija nei ankstesnės pakavimo linijos, tokios kaip Bosc23 ir Phoenix-E.
„Plat-E“ struktūra sumažina replikacijos kompetentingų retrovirusų (RCR) susidarymo riziką, apribojant pakavimo konstruktus tik būtinomis virusinių struktūrinių genų kodavimo sritimis ir atskiriant jas į skirtingas plazmides. Šis dizainas reikalauja mažiausiai trijų rekombinacijos įvykių, kad susidarytų RCR, taip padidindamas biologinį saugumą. „Plat-E“ pasirodė esanti naudinga genų perkėlimo taikymuose, įskaitant veiksmingą pirminių ląstelių, tokių kaip T ląstelės ir putliosios ląstelės, transdukciją. Jos našumas ir ilgalaikis stabilumas daro ją patikima platforma retrovirusinių vektorių gamybai tiek fundamentiniuose tyrimuose, tiek ikiklinikiniuose genų terapijos kūrimo etapuose.

Audinys	Vaisiaus inkstas

Sinonimai

- Platinum-E

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

PLAT-E (Cytion katalogo numeris 305855)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	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

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS

Disociacijos reagentas	Accutase
Sėjos tankis	1–4 × 10^4 ląstelių/cm^2
Skysčių atnaujinimas	2-3 kartus per savaitę

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	Vaisius

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Atsakomybės apribojimas

Mūsų ląstelės teikiamos tik in vitro laboratoriniams tyrimams ir nėra skirtos klinikiniam ar diagnostiniam naudojimui, jos taip pat nėra skirtos žmonėms ar naudojamos veterinarijos tikslais. Naudotojai privalo laikytis visų galiojančių rekomendacijų ir taisyklių, taikomų šių ląstelių tvarkymui ir naudojimui mokslinių tyrimų aplinkoje.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href="/Kas mes esame/garantijos/" hreflang="x-default">Garantijos pareiškime

Reikalinga medžiagų perdavimo sutartis	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