PLAT-E

305855

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Plat-E (Platinum-E) ir retrovīrusu iepakošanas šūnu līnija, kas izveidota, izmantojot cilvēka embrionālo nieru 293T šūnu kā pamatu. Tā tika izstrādāta, lai nodrošinātu stabilu un efektīvu sistēmu augsta titra ekotropo retrovīrusu īslaicīgai ražošanai. Šūnu līnija tika izveidota, izmantojot jaunus iepakošanas konstruktus, kuros vīrusu strukturālo gēnu — gag-pol un env — ekspresiju virza cilvēka EF1α promotors, kas 293T šūnās ir ievērojami spēcīgāks nekā parastais MuLV garā terminālā atkārtojuma (LTR) promotors. Šis dizains nodrošina stabilu transkripcijas aktivitāti un atbalsta augsta līmeņa vīrusu komponentu ražošanu, kas nepieciešama efektīvai retrovīrusu montāžai un iepakošanai.
Plat-E šūnas tika iegūtas, secīgi veicot stabilu pEnv-IRES-puror un pGag-pol-IRES-bsr konstrukciju transfekciju, kas saista vīrusu gēnus ar antibiotiku rezistences marķieriem caur iekšējām ribosomu ieejas vietām (IRES). Šī konfigurācija garantē, ka tikai šūnas, kas ekspresē būtiskos vīrusu gēnus, iegūst arī antibiotiku rezistenci, ļaujot atlasīt subklonus ar augstu ekspresiju. Iegūtā Plat-E līnija konsekventi ražo retrovirusus ar titriem līdz 1 × 10^7 infekciozajām vienībām uz mililitru vismaz četrus mēnešus, ja tiek kultivēta dubultās selekcijas apstākļos ar puromicīnu un blasticidīnu. Northern blot, reversās transkriptāzes aktivitātes un plūsmas citometrijas analīzes apstiprināja, ka Plat-E izrāda ievērojami augstāku gag-pol un env ekspresiju nekā iepriekšējās iepakošanas līnijas, piemēram, Bosc23 un Phoenix-E.
Plat-E arhitektūra samazina risku radīt replikācijas spējīgus retrovirusus (RCR), ierobežojot iepakošanas konstrukcijas tikai ar nepieciešamajām vīrusu strukturālo gēnu kodējošajām reģionām un sadalot tās dažādās plazmīdās. Šis dizains prasa vismaz trīs rekombinācijas notikumus, lai radītu RCR, tādējādi uzlabojot bioloģisko drošību. Plat-E ir pierādījis savu lietderību gēnu pārneses lietojumos, tostarp efektīvā primāro šūnu, piemēram, T šūnu un tūskas šūnu, transdukcijā. Tā veiktspēja un ilgtermiņa stabilitāte padara to par uzticamu platformu retrovirālo vektoru ražošanai gan pamatpētījumos, gan pirmsklīniskajā gēnu terapijas attīstībā.

Audums	Augļa nieres

Sinonīmi

- Platinum-E

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

IDENTIFIKATORI

Atsauce

PLAT-E (Cytion kataloga numurs 305855)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	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

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase
Sēšanas blīvums	1 līdz 4 x 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	Auglis

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

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Atbrīvojums no atbildības

Mūsu šūnas ir paredzētas tikai in vitro laboratorijas pētījumiem, un tās nav paredzētas klīniskai vai diagnostiskai lietošanai, tās nav ievadāmas cilvēkiem vai izmantojamas veterinārijā. Lietotājiem jāievēro visas piemērojamās vadlīnijas un noteikumi par šo šūnu apstrādi un izmantošanu pētniecībā.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes