PLAT-E

305855

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

Plat-E (Platinum-E) er en retrovirus-pakkecellelinje som er utviklet på bakgrunn av den humane embryonale nyrecellelinjen 293T. Den ble utviklet for å gi et stabilt og effektivt system for midlertidig produksjon av ekotrope retrovirus med høy titer. Cellelinjen ble konstruert ved hjelp av nye pakkekonstruksjoner der uttrykket av virale strukturgener – gag-pol og env – drives av den humane EF1α-promotoren, som er betydelig kraftigere i 293T-celler enn den konvensjonelle MuLV-promotoren med lang terminal repetisjon (LTR). Denne utformingen sikrer robust transkripsjonsaktivitet og støtter høyt nivå av produksjon av virale komponenter som er nødvendige for effektiv retrovirus-sammenstilling og -pakking.
Plat-E-celler ble generert gjennom sekvensiell stabil transfeksjon av pEnv-IRES-puror- og pGag-pol-IRES-bsr-konstrukt, som knytter de virale genene til antibiotikaresistensmarkører via interne ribosominngangssider (IRES). Denne konfigurasjonen garanterer at kun celler som uttrykker de essensielle virale genene også oppnår antibiotikaresistens, noe som muliggjør seleksjon av subkloner med høyt uttrykk. Den resulterende Plat-E-linjen produserer konsekvent retrovirus med titere på opptil 1 × 10^7 smitteenheter per milliliter i minst fire måneder når den dyrkes under dobbel seleksjon med puromycin og blasticidin. Northern blot-, revers transkriptaseaktivitets- og flowcytometrianalyser bekreftet at Plat-E viser betydelig høyere gag-pol- og env-ekspresjon enn tidligere pakkelinjer som Bosc23 og Phoenix-E.
Plat-Es arkitektur minimerer risikoen for å generere replikasjonskompetente retrovirus (RCR) ved å begrense pakkekonstruksjonene til kun de nødvendige kodende regionene av de virale strukturgenene og separere dem på forskjellige plasmider. Denne utformingen krever minst tre rekombinasjonshendelser for å produsere RCR, noe som dermed forbedrer biosikkerheten. Plat-E har vist seg nyttig i genoverføringsapplikasjoner, inkludert effektiv transduksjon av primære celler som T-celler og mastceller. Ytelsen og den langsiktige stabiliteten gjør den til en pålitelig plattform for produksjon av retrovirale vektorer både i grunnforskning og preklinisk utvikling av genterapi.

Vev	Fosterets nyre

Synonymer

- Platinum-E

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Kvinne
Vekstegenskaper	Tilhenger
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-status

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.

Biosikkerhetsnivå	1

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

PLAT-E (Cytion-katalognummer 305855)

NCBI-skattenummer	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

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

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

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissosiasjonsmiddel	Accutase
Såtetthet	1 til 4 × 10^4 celler/cm^2
Væskefornyelse	2 til 3 ganger per uke

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	Foster

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Ansvarsfraskrivelse

Cellene våre leveres utelukkende til in vitro-laboratorieforskningsformål og er ikke ment for klinisk eller diagnostisk bruk, og de skal heller ikke administreres til mennesker eller brukes til veterinærformål. Brukere må overholde alle gjeldende retningslinjer og forskrifter for håndtering og bruk av disse cellene i forskningssammenheng.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	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