PLAT-E

305855

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

Plat-E (Platinum-E) is een retrovirus-verpakkingscellijn die is ontwikkeld op basis van de menselijke embryonale niercel 293T. Deze cellijn is ontwikkeld om een stabiel en efficiënt systeem te bieden voor de tijdelijke productie van ecotrope retrovirussen met een hoge titer. De cellijn is geconstrueerd met behulp van nieuwe verpakkingsconstructen waarin de expressie van virale structurele genen – gag-pol en env – wordt aangestuurd door de menselijke EF1α-promotor, die in 293T-cellen aanzienlijk krachtiger is dan de conventionele MuLV long terminal repeat (LTR)-promotor. Dit ontwerp zorgt voor een robuuste transcriptieactiviteit en ondersteunt de productie op hoog niveau van virale componenten die nodig zijn voor een efficiënte assemblage en verpakking van retrovirussen.
Plat-E-cellen werden gegenereerd door middel van opeenvolgende stabiele transfectie van pEnv-IRES-puror- en pGag-pol-IRES-bsr-constructen, die de virale genen via interne ribosoom-toegangsplaatsen (IRES) koppelen aan antibiotica-resistentiemarkers. Deze configuratie garandeert dat alleen cellen die de essentiële virale genen tot expressie brengen ook antibioticaresistentie verwerven, waardoor selectie van subklonen met hoge expressie mogelijk is. De resulterende Plat-E-lijn produceert consistent retrovirussen met titers tot 1×10^7 infectieuze eenheden per milliliter gedurende ten minste vier maanden bij kweek onder dubbele selectie met puromycine en blasticidine. Northern-blot-, reverse-transcriptase-activiteits- en flowcytometrieanalyses bevestigden dat Plat-E een significant hogere gag-pol- en env-expressie vertoont dan eerdere verpakkingslijnen zoals Bosc23 en Phoenix-E.
De architectuur van Plat-E minimaliseert het risico op het genereren van replicatiecompetente retrovirussen (RCR) door de verpakkingsconstructen te beperken tot alleen de noodzakelijke coderende regio's van de virale structuurgenen en deze te scheiden op verschillende plasmiden. Dit ontwerp vereist ten minste drie recombinatie-events om RCR te produceren, waardoor de bioveiligheid wordt verbeterd. Plat-E is nuttig gebleken bij genoverdrachtstoepassingen, waaronder efficiënte transductie van primaire cellen zoals T-cellen en mestcellen. De prestaties en langetermijnstabiliteit maken het een betrouwbaar platform voor de productie van retrovirale vectoren in zowel fundamenteel onderzoek als de preklinische ontwikkeling van gentherapie.

Weefsel	Foetale nier

Synoniemen

- Platinum-E

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	1

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

PLAT-E (Cytion-catalogusnummer 305855)

NCBI-belastingnummer	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

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	Accutase
Zaaidichtheid	1 tot 4 × 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	Foetus

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Disclaimer

Onze cellen worden uitsluitend geleverd voor in vitro laboratoriumonderzoek en zijn niet bedoeld voor klinisch of diagnostisch gebruik, noch mogen ze worden toegediend aan mensen of worden gebruikt voor veterinaire doeleinden. Gebruikers moeten zich houden aan alle toepasselijke richtlijnen en voorschriften voor het hanteren en gebruiken van deze cellen in een onderzoeksomgeving.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	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