PLAT-E

305855

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Plat-E (Platinum-E) to linia komórkowa służąca do pakowania retrowirusów, wyhodowana na bazie ludzkich embrionalnych komórek nerkowych 293T. Została ona opracowana w celu zapewnienia stabilnego i wydajnego systemu do przejściowej produkcji ekotropowych retrowirusów o wysokim mianie. Linia komórkowa została skonstruowana przy użyciu nowatorskich konstrukcji pakujących, w których ekspresja genów strukturalnych wirusa – gag-pol i env – jest sterowana przez ludzki promotor EF1α, który jest znacznie silniejszy w komórkach 293T niż konwencjonalny promotor długiego powtórzenia terminalnego (LTR) wirusa MuLV. Taka konstrukcja zapewnia silną aktywność transkrypcyjną i umożliwia produkcję na wysokim poziomie składników wirusowych niezbędnych do wydajnego montażu i pakowania retrowirusów.
Komórki Plat-E wyhodowano poprzez sekwencyjną stabilną transfekcję konstrukcji pEnv-IRES-puror i pGag-pol-IRES-bsr, które łączą geny wirusowe z markerami oporności na antybiotyki poprzez wewnętrzne miejsca wejścia rybosomu (IRES). Taka konfiguracja gwarantuje, że tylko komórki wyrażające niezbędne geny wirusowe zyskują również oporność na antybiotyki, co pozwala na selekcję subklonów o wysokiej ekspresji. Powstała linia Plat-E konsekwentnie wytwarza retrowirusy o mianie do 1×10^7 jednostek zakaźnych na mililitr przez co najmniej cztery miesiące, gdy jest hodowana w warunkach podwójnej selekcji z użyciem puromycyny i blastycydyny. Analizy metodą Northern blot, aktywności odwrotnej transkryptazy oraz cytometrii przepływowej potwierdziły, że Plat-E wykazuje znacznie wyższą ekspresję gag-pol i env niż poprzednie linie pakujące, takie jak Bosc23 i Phoenix-E.
Architektura Plat-E minimalizuje ryzyko wytworzenia retrowirusa zdolnego do replikacji (RCR) poprzez ograniczenie konstrukcji pakujących wyłącznie do niezbędnych regionów kodujących genów strukturalnych wirusa i rozdzielenie ich na różne plazmidy. Taka konstrukcja wymaga co najmniej trzech zdarzeń rekombinacji do wytworzenia RCR, co zwiększa bezpieczeństwo biologiczne. Plat-E okazał się przydatny w zastosowaniach związanych z transferem genów, w tym w skutecznej transdukcji komórek pierwotnych, takich jak komórki T i komórki tuczne. Jego wydajność i długoterminowa stabilność sprawiają, że jest to niezawodna platforma do produkcji wektorów retrowirusowych zarówno w badaniach podstawowych, jak i przedklinicznym rozwoju terapii genowej.

Chusteczka	Nerka płodu

Synonimy

- Platinum-E

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

IDENTYFIKATORY

Źródło

PLAT-E (numer katalogowy Cytion 305855)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B488

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (numer artykułu Cytion 820700a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO_2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase
Gęstość wysiewu	od 1 do 4 × 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	Płód

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Zastrzeżenie

Nasze komórki są dostarczane wyłącznie do celów badań laboratoryjnych in vitro i nie są przeznaczone do użytku klinicznego lub diagnostycznego, nie mogą być podawane ludziom ani wykorzystywane do celów weterynaryjnych. Użytkownicy muszą przestrzegać wszystkich obowiązujących wytycznych i przepisów dotyczących obchodzenia się z tymi komórkami i korzystania z nich w środowisku badawczym.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes