PLAT-E

305855

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

Plat-E (Platinum-E) je bunková línia určená na balenie retrovírusov, vytvorená na základe ľudských embryonálnych obličkových buniek 293T. Bola vyvinutá s cieľom poskytnúť stabilný a efektívny systém na dočasnú produkciu ekotropných retrovírusov s vysokým titrom. Bunka bola vytvorená pomocou nových baliacich konštruktov, v ktorých je expresia vírusových štrukturálnych génov – gag-pol a env – riadená ľudským promotérom EF1α, ktorý je v bunkách 293T podstatne silnejší ako bežný promotér MuLV s dlhým terminálnym opakovaním (LTR). Táto konštrukcia zabezpečuje silnú transkripčnú aktivitu a podporuje vysokú produkciu vírusových zložiek potrebných na efektívne zostavenie a balenie retrovírusov.
Bunky Plat-E boli generované prostredníctvom postupnej stabilnej transfekcie konštruktov pEnv-IRES-puror a pGag-pol-IRES-bsr, ktoré spájajú vírusové gény s markermi rezistencie voči antibiotikám prostredníctvom vnútorných miest vstupu do ribozómu (IRES). Táto konfigurácia zaručuje, že iba bunky exprimujúce esenciálne vírusové gény získajú aj rezistenciu voči antibiotikám, čo umožňuje selekciu subklonov s vysokou expresiou. Výsledná línia Plat-E konzistentne produkuje retrovírusy s titrami až 1×10^7 infekčných jednotiek na mililiter po dobu najmenej štyroch mesiacov pri kultivácii v podmienkach dvojitej selekcie s puromycínom a blasticidínom. Analýzy Northern blot, aktivity reverznej transkriptázy a prietokovej cytometrie potvrdili, že Plat-E vykazuje výrazne vyššiu expresiu gag-pol a env ako predchádzajúce baliace línie, ako sú Bosc23 a Phoenix-E.
Architektúra Plat-E minimalizuje riziko generovania replikačne kompetentného retrovírusu (RCR) tým, že obmedzuje baliace konštrukty iba na potrebné kódujúce oblasti vírusových štrukturálnych génov a oddeľuje ich na rôzne plazmidy. Tento dizajn vyžaduje najmenej tri rekombinačné udalosti na produkciu RCR, čím sa zvyšuje biologická bezpečnosť. Plat-E sa osvedčil v aplikáciách génového prenosu, vrátane efektívnej transdukcie primárnych buniek, ako sú T-bunky a žírne bunky. Jeho výkonnosť a dlhodobá stabilita z neho robia spoľahlivú platformu pre produkciu retrovirových vektorov v základnom výskume aj v predklinickom vývoji génovej terapie.

Tkanivo	Plodová oblička

Synonymá

- Platinum-E

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Žena
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o štatúte 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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

PLAT-E (katalógové číslo Cytion 305855)

Daňové identifikačné číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B488

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS

Disociačné činidlo	Accutase
Hustota výsevu	1 až 4 × 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne

Rozmrazovanie a kultivácia

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 KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Vek darcu	Plod

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Upozornenie

Naše bunky sa poskytujú výlučne na účely laboratórneho výskumu in vitro a nie sú určené na klinické alebo diagnostické použitie, ani sa nemajú podávať ľuďom alebo používať na veterinárne účely. Používatelia musia dodržiavať všetky platné smernice a predpisy pre manipuláciu a používanie týchto buniek vo výskumnom prostredí.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Je potrebná dohoda o prenose materiálu	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