PLAT-E

305855

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

Plat-E (Platinum-E) är en cellinje för retroviruspaketering som har framställts utifrån den humana embryonala njurcellinjen 293T. Den har utvecklats för att tillhandahålla ett stabilt och effektivt system för tillfällig produktion av ekotropa retrovirus med hög titer. Cellinjen konstruerades med hjälp av nya förpackningskonstruktioner där uttrycket av virala strukturgener – gag-pol och env – drivs av den humana EF1α-promotorn, som är betydligt mer potent i 293T-celler än den konventionella MuLV-promotorn med lång terminal repetition (LTR). Denna design säkerställer robust transkriptionsaktivitet och stödjer högproduktion av virala komponenter som är nödvändiga för effektiv retrovirusmontering och förpackning.
Plat-E-celler genererades genom sekventiell stabil transfektion av pEnv-IRES-puror- och pGag-pol-IRES-bsr-konstruktioner, vilka kopplar de virala generna till antibiotikaresistensmarkörer via interna ribosominträdesställen (IRES). Denna konfiguration garanterar att endast celler som uttrycker de essentiella virala generna också får antibiotikaresistens, vilket möjliggör selektion av subkloner med högt uttryck. Den resulterande Plat-E-linjen producerar konsekvent retrovirus med titrar upp till 1 × 10^7 infektiösa enheter per milliliter under minst fyra månader när den odlas under dubbel selektion med puromycin och blasticidin. Northern blot-, revers transkriptasaktivitets- och flödescytometrianalyser bekräftade att Plat-E uppvisar signifikant högre gag-pol- och env-expression än tidigare förpackningslinjer såsom Bosc23 och Phoenix-E. Plat-E:s arkitektur minimerar risken för att generera replikationskompetenta retrovirus (RCR) genom att begränsa förpackningskonstruktionerna till endast de nödvändiga kodande regionerna av de virala strukturgenerna och separera dem på olika plasmider. Denna design kräver minst tre rekombinationshändelser för att producera RCR, vilket därmed förbättrar biosäkerheten. Plat-E har visat sig vara användbart i genöverföringsapplikationer, inklusive effektiv transduktion av primära celler såsom T-celler och mastceller. Dess prestanda och långsiktiga stabilitet gör det till en pålitlig plattform för produktion av retrovirala vektorer inom både grundforskning och preklinisk utveckling av genterapi.

Vävnad	Fetal njure

Synonymer

- Platinum-E

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
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.

Biosäkerhetsnivå	1

IDENTIFIERARE

Källa

PLAT-E (Cytion-artikelnummer 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

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociationsmedel	Accutase
Såtäthet	1 till 4 × 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	2 till 3 gånger per vecka

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	Foster

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Ansvarsfriskrivning

Våra celler tillhandahålls uteslutande för in vitro-laboratorieforskning och är inte avsedda för klinisk eller diagnostisk användning, och de ska inte heller administreras till människor eller användas för veterinära ändamål. Användare måste följa alla tillämpliga riktlinjer och föreskrifter för hantering och användning av dessa celler i en forskningsmiljö.

Garanti

På Cytіon står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	Yes