PLAT-E

305855

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Plat-E (Platinum-E) — це клітинна лінія для упаковки ретровірусів, створена на основі клітин людської ембріональної нирки 293T. Вона була розроблена з метою забезпечення стабільної та ефективної системи для тимчасового виробництва екотропних ретровірусів з високим титром. Клітинна лінія була створена з використанням нових конструкцій для упаковки, в яких експресія структурних генів вірусу — gag-pol та env — регулюється промотором EF1α людини, який є значно потужнішим у клітинах 293T, ніж традиційний промотор MuLV з довгим термінальним повтором (LTR). Така конструкція забезпечує високу транскрипційну активність та сприяє виробництву у великих кількостях вірусних компонентів, необхідних для ефективного складання та упаковки ретровірусів.
Клітини Plat-E були отримані шляхом послідовної стабільної трансфекції конструкцій pEnv-IRES-puror та pGag-pol-IRES-bsr, які пов'язують вірусні гени з маркерами антибіотикорезистентності через внутрішні сайти входу в рибосому (IRES). Така конфігурація гарантує, що лише клітини, які експресують необхідні вірусні гени, також набувають антибіотикорезистентності, що дозволяє відбирати субклони з високим рівнем експресії. Отримана лінія Plat-E стабільно продукує ретровіруси з титрами до 1×10^7 інфекційних одиниць на мілілітр протягом щонайменше чотирьох місяців при культивуванні в умовах подвійної селекції з пуроміцином та бластицидином. Аналізи методом Northern blot, визначення активності зворотної транскриптази та проточкової цитометрії підтвердили, що Plat-E демонструє значно вищу експресію gag-pol та env, ніж попередні лінії упаковки, такі як Bosc23 та Phoenix-E. Архітектура Plat-E мінімізує ризик утворення реплікаційно-компетентних ретровірусів (RCR) шляхом обмеження упаковних конструкцій лише необхідними кодуючими ділянками структурних генів вірусу та їх розділення на різні плазміди. Ця конструкція вимагає щонайменше трьох рекомбінаційних подій для утворення RCR, тим самим підвищуючи біобезпеку. Plat-E виявився корисним у застосуваннях для перенесення генів, включаючи ефективну трансдукцію первинних клітин, таких як Т-клітини та тучні клітини. Його продуктивність та довгострокова стабільність роблять його надійною платформою для виробництва ретровірусних векторів як у фундаментальних дослідженнях, так і в доклінічній розробці генної терапії.

Тканина	Нирка плода

Синоніми

- Platinum-E

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

PLAT-E (номер у каталозі Cytion 305855)

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

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_B488

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Аккутаза
Щільність висіву	від 1 до 4 × 10^4 клітин/$см^2$
Оновлення рідини	2-3 рази на тиждень

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	Плід

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Застереження

Наші клітини призначені виключно для лабораторних досліджень in vitro і не призначені для клінічного або діагностичного використання, а також не можуть бути введені людям або використані у ветеринарних цілях. Користувачі повинні дотримуватися всіх застосовних інструкцій і правил щодо поводження з цими клітинами та їх використання в дослідницьких цілях.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Необхідна угода про передачу матеріалів	Yes