PLAT-E

305855

GENERAL INFORMATION

Description

Plat-E (Platinum-E) là một dòng tế bào đóng gói retrovirus được tạo ra từ nền tảng tế bào thận phôi người 293T. Dòng tế bào này được phát triển nhằm cung cấp một hệ thống ổn định và hiệu quả cho việc sản xuất tạm thời các retrovirus ecotropic có nồng độ cao. Dòng tế bào này được xây dựng bằng cách sử dụng các cấu trúc đóng gói mới, trong đó sự biểu hiện của các gen cấu trúc virus - gag-pol và env - được điều khiển bởi promoter EF1α của người, có hiệu lực mạnh hơn đáng kể trong tế bào 293T so với promoter lặp lại đầu cuối dài (LTR) MuLV thông thường. Thiết kế này đảm bảo hoạt động phiên mã mạnh mẽ và hỗ trợ sản xuất ở mức cao các thành phần virus cần thiết cho việc lắp ráp và đóng gói retrovirus hiệu quả.
Tế bào Plat-E được tạo ra thông qua quá trình chuyển gen ổn định liên tiếp của các cấu trúc pEnv-IRES-puror và pGag-pol-IRES-bsr, trong đó các gen virus được liên kết với các dấu hiệu kháng kháng sinh thông qua các vị trí xâm nhập ribosome nội tại (IRES). Cấu hình này đảm bảo rằng chỉ các tế bào biểu hiện các gen virus thiết yếu mới có được khả năng kháng kháng sinh, cho phép chọn lọc các dòng con có mức biểu hiện cao. Dòng tế bào Plat-E thu được liên tục sản xuất retrovirus với nồng độ lên đến 1×10^7 đơn vị lây nhiễm trên mỗi mililit trong ít nhất bốn tháng khi nuôi cấy dưới chế độ chọn lọc kép với puromycin và blasticidin. Các phân tích Northern blot, hoạt tính reverse transcriptase và cytometry dòng chảy đã xác nhận rằng Plat-E thể hiện mức biểu hiện gag-pol và env cao hơn đáng kể so với các dòng đóng gói tiền nhiệm như Bosc23 và Phoenix-E.
Cấu trúc của Plat-E giảm thiểu nguy cơ tạo ra retrovirus có khả năng nhân lên (RCR) bằng cách giới hạn các cấu trúc đóng gói chỉ bao gồm các vùng mã hóa cần thiết của gen cấu trúc virus và tách chúng ra các plasmid khác nhau. Thiết kế này yêu cầu ít nhất ba sự kiện tái tổ hợp để tạo ra RCR, từ đó nâng cao an toàn sinh học. Plat-E đã chứng tỏ tính hữu ích trong các ứng dụng chuyển gen, bao gồm sự truyền gen hiệu quả vào các tế bào nguyên phát như tế bào T và tế bào mast. Hiệu suất và độ ổn định lâu dài của nó khiến nó trở thành một nền tảng đáng tin cậy để sản xuất vectơ retrovirus trong cả nghiên cứu cơ bản và phát triển liệu pháp gen tiền lâm sàng.

Tissue	Thận của thai nhi

Synonyms

- Platinum-E

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

PLAT-E (Mã sản phẩm Cytion 305855)

NCBI TaxID	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

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation reagent	Accutase
Seeding density	1 đến 4 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

DONOR

Donor age	Thai nhi

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Disclaimer

Các tế bào của chúng tôi được cung cấp độc quyền cho mục đích nghiên cứu trong phòng thí nghiệm in vitro và không được sử dụng cho mục đích lâm sàng hoặc chẩn đoán, cũng như không được tiêm cho con người hoặc sử dụng cho mục đích thú y. Người sử dụng phải tuân thủ tất cả các hướng dẫn và quy định áp dụng liên quan đến việc xử lý và sử dụng các tế bào này trong môi trường nghiên cứu.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Material Transfer Agreement required	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