

PLAT-E-celler | 305855

General information

Description

Plat-E (Platinum-E) er en retrovirus-pakkecellelinje, der er udviklet på basis af den humane embryonale nyrecelle 293T. Den blev udviklet med henblik på at tilvejebringe et stabilt og effektivt system til midlertidig produktion af ekotrope retrovirus med høj titer. Cellelinjen blev konstrueret ved hjælp af nye pakningskonstruktioner, hvor ekspressionen af virale strukturgener – gag-pol og env – drives af den humane EF1 α -promotor, som er væsentligt mere potent i 293T-celler end den konventionelle MuLV long terminal repeat (LTR)-promotor. Dette design sikrer robust transkriptionel aktivitet og understøtter produktion på højt niveau af virale komponenter, der er nødvendige for effektiv retrovirus-samling og -pakning.

Plat-E-celler blev genereret gennem sekventiel stabil transfektion af pEnv-IRES-puror- og pGag-pol-IRES-bsr-konstruktioner, som forbinder de virale gener med antibiotikaresistensmarkører via interne ribosomindgangssteder (IRES). Denne konfiguration garanterer, at kun celler, der udtrykker de essentielle virale gener, også opnår antibiotikaresistens, hvilket muliggør selektion af subkloner med højt ekspressionsniveau. Den resulterende Plat-E-linje producerer konsekvent retrovirus med titere på op til 1×10^7 infektiøse enheder pr. milliliter i mindst fire måneder, når den dyrkes under dobbelt selektion med puromycin og blasticidin. Northern blot-, revers transkriptaseaktivitets- og flowcytometri-analyser bekræftede, at Plat-E udviser signifikant højere gag-pol- og env-ekspression end tidligere pakkelinjer såsom Bosc23 og Phoenix-E.

Plat-E's arkitektur minimerer risikoen for dannelse af replikationskompetente retrovirus (RCR) ved at begrænse pakningskonstruktionerne til kun de nødvendige kodende regioner af de virale strukturgener og adskille dem på forskellige plasmider. Dette design kræver mindst tre rekombinationshændelser for at producere RCR, hvilket dermed forbedrer biosikkerheden. Plat-E har vist sig nyttigt i genoverførselsanvendelser, herunder effektiv transduktion af primære celler såsom T-celler og mastceller. Dets ydeevne og langsigtede stabilitet gør det til en pålidelig platform til produktion af retrovirale vektorer i både grundforskning og præklinisk udvikling af genterapi.

Organism Menneske

Tissue Fosterets nyre

Synonyms Platinum-E

Karakteristika

Age Foster

Gender Kvinde

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

PLAT-E-celler | 305855

Citation	PLAT-E (Cytion-katalognummer 305855)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B488
GMO Status	GMO-S1: Denne retrovirale pakkecellelinje (PLAT-E) indeholder konstruktioner, der koder for gag-pol og env under kontrol af EF1 α -promotoren, hvilket muliggør produktion af ekotrope retrovirale partikler. Modifikationer er stabilt til stede i celler afledt af HEK293T. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Mutational profile	
---------------------------	--

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	1 til 4×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

PLAT-E-celler | 305855

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opbevaring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

PLAT-E-celler | 305855

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.