

Sel PLAT-E | 305855

Informasi umum

Description

Plat-E (Platinum-E) adalah lini sel pengemas retrovirus yang direkayasa dari sel ginjal embrio manusia 293T. Lini sel ini dikembangkan untuk menyediakan sistem yang stabil dan efisien guna produksi sementara retrovirus ekotropik dengan titer tinggi. Baris sel ini dibangun menggunakan konstruksi pengemasan baru di mana ekspresi gen struktural virus - gag-pol dan env - didorong oleh promotor EF1 α manusia, yang secara substansial lebih kuat pada sel 293T daripada promotor long terminal repeat (LTR) MuLV konvensional. Desain ini memastikan aktivitas transkripsi yang kuat dan mendukung produksi tingkat tinggi komponen virus yang diperlukan untuk perakitan dan pengemasan retrovirus yang efisien.

Sel Plat-E dihasilkan melalui transfeksi stabil berurutan dari konstruksi pEnv-IRES-puro dan pGag-pol-IRES-bsd, yang menghubungkan gen-gen virus dengan penanda resistensi antibiotik melalui situs masuk ribosom internal (IRES). Konfigurasi ini menjamin bahwa hanya sel yang mengekspresikan gen-gen virus esensial yang juga memperoleh resistensi antibiotik, sehingga memungkinkan seleksi subklon dengan ekspresi tinggi. Garis sel Plat-E yang dihasilkan secara konsisten menghasilkan retrovirus dengan titer hingga 1×10^7 unit infeksius per mililiter selama setidaknya empat bulan saat dikultur dengan seleksi ganda menggunakan puromisin dan blasticidin. Analisis Northern blot, aktivitas reverse transcriptase, dan sitometri aliran mengonfirmasi bahwa Plat-E menunjukkan ekspresi gag-pol dan env yang jauh lebih tinggi dibandingkan garis pengemasan pendahulunya seperti Bosc23 dan Phoenix-E.

Arsitektur Plat-E meminimalkan risiko pembentukan retrovirus yang mampu bereplikasi (RCR) dengan membatasi konstruksi pengemasan hanya pada daerah pengkodean yang diperlukan dari gen struktural virus dan memisahkannya ke dalam plasmid yang berbeda. Desain ini memerlukan setidaknya tiga peristiwa rekombinasi untuk menghasilkan RCR, sehingga meningkatkan keamanan biologis. Plat-E telah terbukti berguna dalam aplikasi transfer gen, termasuk transduksi yang efisien pada sel primer seperti sel T dan sel mast. Kinerja dan stabilitas jangka panjangnya menjadikannya platform yang andal untuk produksi vektor retrovirus baik dalam penelitian dasar maupun pengembangan terapi gen praklinis.

Organism Manusia

Tissue Ginjal janin

Synonyms Platinum-E

Karakteristik

Age Janin

Gender Perempuan

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Sel PLAT-E | 305855

Citation	PLAT-E (Nomor katalog Cytion 305855)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B488
GMO Status	GMO-S1: Garis sel pengemas retrovirus (PLAT-E) ini mengandung konstruksi yang mengkodekan gag-pol dan env di bawah kendali promotor EF1 α , sehingga mendukung produksi partikel retrovirus ekotropik. Modifikasi tersebut terdapat secara stabil dalam sel yang berasal dari HEK293T. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di negara lain.

Data Biomolekuler

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

Penanganan

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820700a)
Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	1 hingga 4×10^4 sel/cm ²
Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel PLAT-E | 305855

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Sel PLAT-E | 305855

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.