

**PLAT-E Hücreleri | 305855****Genel bilgi****Description**

Plat-E (Platinum-E), insan embriyonik böbrek 293T hücre hattından geliştirilmiş bir retrovirüs paketleme hücre hattıdır. Yüksek titreli, ekotropik retrovirüslerin geçici üretimi için kararlı ve verimli bir sistem sağlamak üzere geliştirilmiştir. Hücre hattı, viral yapısal genlerin (gag-pol ve env) ekspresyonunun, 293T hücrelerinde geleneksel MuLV uzun terminal tekrarı (LTR) promotöründen önemli ölçüde daha güçlü olan insan EF1 $\alpha$  promotörü tarafından yönlendirildiği yeni paketleme yapıları kullanılarak oluşturulmuştur. Bu tasarım, sağlam transkripsiyon aktivitesini garanti eder ve verimli retrovirüs montajı ve paketlemesi için gerekli olan viral bileşenlerin yüksek seviyede üretimini destekler.

Plat-E hücreleri, viral genleri iç ribozom giriş bölgeleri (IRES) aracılığıyla antibiyotik direnç belirteçlerine bağlayan pEnv-IRES-puro ve pGag-pol-IRES-bsr yapılarının sıralı ve stabil transfeksiyonu yoluyla üretilmiştir. Bu konfigürasyon, yalnızca temel viral genleri eksprese eden hücrelerin antibiyotik direnci kazanmasını garanti eder ve böylece yüksek ekspresyonlu alt klonların seçilmesine olanak tanır. Ortaya çıkan Plat-E hattı, puromisin ve blasticidin ile çift seleksiyon altında kültürlendiğinde, en az dört ay boyunca mililitre başına  $1 \times 10^7$  enfeksiyöz birime kadar titreye sahip retrovirüsleri tutarlı bir şekilde üretir. Northern blot, ters transkriptaz aktivitesi ve akış sitometrisi analizleri, Plat-E'nin Bosc23 ve Phoenix-E gibi önceki paketleme hatlarına göre önemli ölçüde daha yüksek gag-pol ve env ekspresyonu sergilediğini doğrulamıştır.

Plat-E'nin mimarisi, paketleme yapılarını viral yapısal genlerin yalnızca gerekli kodlama bölgeleriyle sınırlayarak ve bunları farklı plazmidlere ayırarak replikasyon yeteneğine sahip retrovirüs (RCR) oluşumu riskini en aza indirir. Bu tasarım, RCR üretmek için en az üç rekombinasyon olayı gerektirir, böylece biyogüvenliği artırır. Plat-E, T hücreleri ve mast hücreleri gibi birincil hücrelerin verimli transdüksiyonu dahil olmak üzere gen transferi uygulamalarında yararlı olduğu kanıtlanmıştır. Performansı ve uzun vadeli stabilitesi, onu hem temel araştırma hem de prelinik gen terapisi geliştirmelerinde retroviral vektör üretimi için güvenilir bir platform haline getirmektedir.

**Organism** İnsan**Tissue** Fetal böbrek**Synonyms** Platinum-E**Özellikler****Age** Fetüs**Gender** Kadın**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler**

## PLAT-E Hücreleri | 305855

<b>Citation</b>	PLAT-E (Cytion katalog numarası 305855)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B488
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Bu retroviral paketleme hücre hattı (PLAT-E), EF1 $\alpha$ promotörünün kontrolü altında gag-pol ve env genlerini kodlayan yapıları içerir ve ekotropik retroviral partiküllerin üretimini destekler. Bu modifikasyonlar, HEK293T kaynaklı hücrelerde kalıcı olarak mevcuttur. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

## Biyomoleküler Veriler

<b>Mutational profile</b>	
---------------------------	--

## Elleçleme

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion makale numarası 820700a)
<b>Supplements</b>	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Seeding density</b>	1 ila 4 x 10 <sup>4</sup> hücre/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	haftada 2 ila 3 kez
<b>Freeze medium</b>	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

**PLAT-E Hücreleri | 305855****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Shipping  
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Storage  
Conditions**

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

**Kalite kontrol / Genetik profil / HLA**

## PLAT-E Hücresleri | 305855

### **Sterility**

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.