

## Tế bào PLAT-E | 305855

## Thông tin chung

## 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 EF1 $\alpha$  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-puro 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  $1 \times 10^7$  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.

**Organism** Con người

**Tissue** Thận của thai nhi

**Synonyms** Platinum-E

## Đặc điểm

**Age** Thai nhi

**Gender** Nữ

**Growth properties** Người tuân thủ

## Dữ liệu quy định

**Citation** PLAT-E (Mã sản phẩm Cytion 305855)

**Tế bào PLAT-E | 305855****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B488**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào đóng gói retrovirus này (PLAT-E) chứa các cấu trúc gen mã hóa gag-pol và env dưới sự điều khiển của promoter EF1 $\alpha$ , hỗ trợ sản xuất các hạt retrovirus ecotropic. Các biến đổi này tồn tại ổn định trong các tế bào có nguồn gốc từ HEK293T. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác biệt ở các quốc gia khác.**Dữ liệu sinh học phân tử****Mutational profile****Xử lý****Culture Medium** RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)**Supplements** Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** 1 đến  $4 \times 10^4$  tế bào/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**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 nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

**Tế bào PLAT-E | 305855****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới  $-150^{\circ}\text{C}$  để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước  $37^{\circ}\text{C}$  với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở  $300 \times g$  trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , môi trường ẩm.

**Flask Coating**

Không có

**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  $-78^{\circ}\text{C}$  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.

**Storage  
Conditions**

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

**Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA**

## Tế bào PLAT-E | 305855

### **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.