

**PLAT-E-Zellen | 305855**

**Allgemeine Informationen**

**Description**

Plat-E (Platinum-E) ist eine Retrovirus-Verpackungszelllinie, die auf der Grundlage der humanen embryonalen Nierenzellen 293T entwickelt wurde. Sie wurde entwickelt, um ein stabiles und effizientes System für die transiente Produktion von ekotropen Retroviren mit hohem Titer bereitzustellen. Die Zelllinie wurde unter Verwendung neuartiger Verpackungskonstrukte konstruiert, bei denen die Expression der viralen Strukturgene – gag-pol und env – durch den humanen EF1α-Promotor gesteuert wird, der in 293T-Zellen wesentlich potenter ist als der herkömmliche MuLV-LTR-Promotor (Long Terminal Repeat). Dieses Design gewährleistet eine robuste Transkriptionsaktivität und unterstützt die hochgradige Produktion viraler Komponenten, die für einen effizienten Retrovirus-Aufbau und eine effiziente Verpackung erforderlich sind.

Plat-E-Zellen wurden durch sequenzielle stabile Transfektion der Konstrukte pEnv-IRES-puro und pGag-pol-IRES-bsr erzeugt, die die viralen Gene über interne Ribosomen-Eintrittsstellen (IRES) mit Antibiotikaresistenzmarkern verknüpfen. Diese Konfiguration garantiert, dass nur Zellen, die die essenziellen viralen Gene exprimieren, auch Antibiotikaresistenz erlangen, was die Selektion hoch exprimierender Subklone ermöglicht. Die resultierende Plat-E-Linie produziert unter doppelter Selektion mit Puromycin und Blasticidin über einen Zeitraum von mindestens vier Monaten konsistent Retroviren mit Titern von bis zu  $1 \times 10^7$  infektiösen Einheiten pro Milliliter. Northern-Blot-, Reverse-Transkriptase-Aktivität- und Durchflusszytometrie-Analysen bestätigten, dass Plat-E eine signifikant höhere gag-pol- und env-Expression aufweist als Vorgänger-Verpackungslinien wie Bosc23 und Phoenix-E.

Die Architektur von Plat-E minimiert das Risiko der Bildung replikationskompetenter Retroviren (RCR), indem die Verpackungskonstrukte auf die notwendigen kodierenden Regionen der viralen Strukturgene beschränkt und auf verschiedene Plasmide aufgeteilt werden. Dieses Design erfordert mindestens drei Rekombinationsereignisse zur Produktion von RCR, wodurch die Biosicherheit erhöht wird. Plat-E hat sich in Gentransferanwendungen als nützlich erwiesen, einschließlich der effizienten Transduktion von Primärzellen wie T-Zellen und Mastzellen. Seine Leistungsfähigkeit und Langzeitstabilität machen es zu einer zuverlässigen Plattform für die Produktion retroviraler Vektoren sowohl in der Grundlagenforschung als auch in der präklinischen Gentherapieentwicklung.

**Organism** Menschen

**Tissue** Fötale Niere

**Synonyms** Platinum-E

**Merkmale**

**Age** Fötus

**Gender** Weiblich

**Growth properties** Adhärent

## PLAT-E-Zellen | 305855

### Regulatorische Daten

<b>Citation</b>	PLAT-E (Cytion-Katalognummer 305855)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B488
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Diese retrovirale Verpackungszelllinie (PLAT-E) enthält Konstrukte, die unter der Kontrolle des EF1 $\alpha$ -Promotors für gag-pol und env kodieren und die Produktion ekotroper retroviraler Partikel ermöglichen. Die Modifikationen sind in von HEK293T-Zellen abgeleiteten Zellen stabil vorhanden. Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

### Biomolekulare Daten

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

### Handhabung

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820700a)
<b>Supplements</b>	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Seeding density</b>	1 bis $4 \times 10^4$ Zellen/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 bis 3 Mal pro Woche
<b>Freeze medium</b>	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

**PLAT-E-Zellen | 305855**

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, befeuchtete Atmosphäre.

**Flask Coating**

Keine

**Shipping  
Conditions**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

**Storage  
Conditions**

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

**PLAT-E-Zellen | 305855**

**Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA**

**Sterility**

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.