Product sheet

Células PLAT-E | 305855

Información general

Description	Plat-E (Platinum-E) es una línea celular de empaquetamiento de retrovirus obtenida a partir de la línea celular renal embrionaria humana 293T. Se desarrolló con el fin de proporcionar un sistema estable y eficaz para la producción transitoria de retrovirus ecotrópicos de alto título. La línea celular se construyó utilizando nuevos constructos de empaquetamiento en los que la expresión de los genes estructurales virales —gag-pol y env— está regulada por el promotor EF1α humano, que es sustancialmente más potente en las células 293T que el promotor convencional de repetición terminal larga (LTR) del MuLV. Este diseño garantiza una actividad transcripcional robusta y permite la producción a gran escala de los componentes virales necesarios para el ensamblaje y empaquetamiento eficientes del retrovirus. Las células Plat-E se generaron mediante la transfección estable secuencial de los constructos pEnv-IRES-puror y pGag-pol-IRES-bsr, que unen los genes virales a marcadores de resistencia a los antibióticos a través de sitios internos de entrada al ribosoma (IRES). Esta configuración garantiza que solo las células que expresan los genes virales esenciales adquieran también resistencia a los antibióticos, lo que permite la selección de subclones de alta expresión. La línea Plat-E resultante produce de forma consistente retrovirus con títulos de hasta 1×10^7 unidades infecciosas por mililitro durante al menos cuatro meses cuando se cultiva bajo selección dual con puromicina y blasticidina. Los análisis de Northern blot, actividad de la transcriptasa inversa y citometría de flujo confirmaron que Plat-E muestra una expresión de gag-pol y env significativamente mayor que las líneas de empaquetamiento predecesoras, como Bosc23 y Phoenix-E. La arquitectura de Plat-E minimiza el riesgo de generar retrovirus con capacidad de replicación (RCR) al limitar los constructos de empaquetamiento únicamente a las regiones codificantes necesarias de los genes estructurales virales y separarlas en diferentes plásmidos. Este diseño requiere al menos tres eventos de recombinación para producir RCR, lo que mejora la bioseguridad. Plat-E ha demostrado su utilidad en aplicaciones de transferencia génica, incluida la transducción eficiente de células primarias como las células T y los mastocitos. Su rendimiento y estabilidad a largo plazo la convierten en una plataforma fiable para la producción de vectores retrovirales tanto en la investigación básica como en el desarrollo preclínico de la terapia génica.
Organism	Humano
Tissue	Riñón fetal
Synonyms	Platino-E

Características

Age	Feto
Gender	Mujer
Growth properties	Adherente

Células PLAT-E | 305855

Datos reglamentarios

Citation	PLAT-E (número de catálogo de Cytion 305855)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B488
GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular de empaquetamiento retroviral (PLAT-E) contiene constructos que codifican gag-pol y env bajo el control del promotor EF1α, lo que permite la producción de partículas retrovirales ecotrópicas. Las modificaciones están presentes de forma estable en células derivadas de HEK293T. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Mutational profile	

Manejo de

Culture Medium	RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO3 (número de artículo de Cytion 820700a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	De 1 a 4 × 10^{4} células/cm^{2}
Fluid renewal	de 2 a 3 veces por semana
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células PLAT-E | 305855

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.