

## Cellules PLAT-E | 305855

## Informations générales

## Description

Plat-E (Platinum-E) est une lignée cellulaire d'encapsulation de rétrovirus dérivée de la lignée cellulaire rénale embryonnaire humaine 293T. Elle a été mise au point afin de fournir un système stable et efficace pour la production transitoire de rétrovirus écotropes à titre élevé. La lignée cellulaire a été construite à l'aide de nouvelles constructions d'encapsulation dans lesquelles l'expression des gènes structuraux viraux (gag-pol et env) est régulée par le promoteur EF1 $\alpha$  humain, qui est nettement plus puissant dans les cellules 293T que le promoteur conventionnel à répétition terminale longue (LTR) du MuLV. Cette conception garantit une activité transcriptionnelle robuste et permet une production à haut niveau des composants viraux nécessaires à l'assemblage et à l'encapsulation efficaces des rétrovirus.

Les cellules Plat-E ont été générées par transfection stable séquentielle des constructions pEnv-IRES-puro et pGag-pol-IRES-bsr, qui relient les gènes viraux à des marqueurs de résistance aux antibiotiques via des sites d'entrée ribosomique internes (IRES). Cette configuration garantit que seules les cellules exprimant les gènes viraux essentiels acquièrent également une résistance aux antibiotiques, ce qui permet la sélection de sous-clones à forte expression. La lignée Plat-E ainsi obtenue produit de manière constante des rétrovirus avec des titres pouvant atteindre  $1 \times 10^7$  unités infectieuses par millilitre pendant au moins quatre mois lorsqu'elle est cultivée sous double sélection avec de la puromycine et de la blasticidine. Des analyses par Northern blot, d'activité de la transcriptase inverse et par cytométrie en flux ont confirmé que Plat-E présente une expression de gag-pol et d'env significativement plus élevée que les lignées d'encapsulation précédentes telles que Bosc23 et Phoenix-E.

L'architecture de Plat-E minimise le risque de génération de rétrovirus compétents pour la réplication (RCR) en limitant les constructions d'encapsulation aux seules régions codantes nécessaires des gènes structuraux viraux et en les séparant sur différents plasmides. Cette conception nécessite au moins trois événements de recombinaison pour produire un RCR, renforçant ainsi la biosécurité. Plat-E s'est révélé utile dans les applications de transfert de gènes, notamment pour la transduction efficace de cellules primaires telles que les lymphocytes T et les mastocytes. Ses performances et sa stabilité à long terme en font une plateforme fiable pour la production de vecteurs rétroviraux, tant dans la recherche fondamentale que dans le développement préclinique de la thérapie génique.

**Organism** Humain

**Tissue** Rein fœtal

**Synonyms** Platinum-E

## Caractéristiques

**Age** Fœtus

**Gender** Femme

**Growth properties** Adhérent

## Cellules PLAT-E | 305855

## Données réglementaires

<b>Citation</b>	PLAT-E (référence Cytion 305855)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B488
<b>GMO Status</b>	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire d'encapsidation rétrovirale (PLAT-E) contient des constructions codant pour les gènes gag-pol et env sous le contrôle du promoteur EF1 $\alpha$ , permettant la production de particules rétrovirales écotropes. Ces modifications sont présentes de manière stable dans les cellules dérivées de la lignée HEK293T. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

## Données biomoléculaires

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

## Manipulation

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (numéro d'article Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Compléter le milieu avec 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Seeding density</b>	1 à 4 × 10 <sup>4</sup> cellules/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 à 3 fois par semaine
<b>Freeze medium</b>	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

## Cellules PLAT-E | 305855

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Aucun

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

## Cellules PLAT-E | 305855

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.