

## PLAT-E-celler | 305855

## Generell informasjon

## Description

Plat-E (Platinum-E) er en retrovirus-pakkecellelinje som er utviklet på bakgrunn av den humane embryonale nyrecellelinjen 293T. Den ble utviklet for å gi et stabilt og effektivt system for midlertidig produksjon av ekotrope retrovirus med høy titer. Cellelinjen ble konstruert ved hjelp av nye pakkekonstruksjoner der uttrykket av virale strukturgener – gag-pol og env – drives av den humane EF1 $\alpha$ -promotoren, som er betydelig kraftigere i 293T-celler enn den konvensjonelle MuLV long terminal repeat (LTR)-promotoren. Denne utformingen sikrer robust transkripsjonsaktivitet og støtter høyt nivå av produksjon av virale komponenter som er nødvendige for effektiv retrovirus-sammenstilling og -pakking.

Plat-E-celler ble generert gjennom sekvensiell stabil transfeksjon av pEnv-IRES-puror- og pGag-pol-IRES-bsr-konstrukt, som knytter de virale genene til antibiotikaresistensmarkører via interne ribosominngangssider (IRES). Denne konfigurasjonen garanterer at kun celler som uttrykker de essensielle virale genene også oppnår antibiotikaresistens, noe som muliggjør seleksjon av subkloner med høyt uttrykk. Den resulterende Plat-E-linjen produserer konsekvent retrovirus med titere på opptil  $1 \times 10^7$  smitteenheter per milliliter i minst fire måneder når den dyrkes under dobbel seleksjon med puromycin og blasticidin. Northern blot-, revers transkriptaseaktivitets- og flowcytometrianalyser bekreftet at Plat-E viser betydelig høyere gag-pol- og env-ekspressjon enn tidligere pakkelinjer som Bosc23 og Phoenix-E.

Plat-Es arkitektur minimerer risikoen for å generere replikasjonskompetente retrovirus (RCR) ved å begrense pakkekonstruksjonene til kun de nødvendige kodende regionene av de virale strukturgene og separere dem på forskjellige plasmider. Denne utformingen krever minst tre rekombinasjonshendelser for å produsere RCR, noe som dermed forbedrer biosikkerheten. Plat-E har vist seg nyttig i genoverføringsapplikasjoner, inkludert effektiv transduksjon av primære celler som T-celler og mastceller. Ytelsen og den langsiktige stabiliteten gjør den til en pålitelig plattform for produksjon av retrovirale vektorer både i grunnforskning og preklinisk utvikling av genterapi.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Fosterets nyre

**Synonyms** Platinum-E

## Kjennetegn

**Age** Foster

**Gender** Kvinne

**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

## PLAT-E-celler | 305855

<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: Denne retrovirale pakkecellelinjen (PLAT-E) inneholder konstruksjoner som koder for gag-pol og env under kontroll av EF1 $\alpha$ -promotoren, noe som muliggjør produksjon av ekotrope retrovirale partikler. Modifikasjonene er stabilt til stede i celler avledet fra HEK293T. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan avvike andre steder.

## Biomolekylære data

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

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Seeding density</b>	1 til $4 \times 10^4$ celler/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 til 3 ganger per uke
<b>Freeze medium</b>	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

## PLAT-E-celler | 305855

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca.  $-150$  til  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Lagring ved  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

**PLAT-E-celler | 305855**

**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.