

## Células PLAT-E | 305855

### Informações gerais

#### Description

A Plat-E (Platinum-E) é uma linha celular de empacotamento de retrovírus criada a partir da linha celular renal embrionária humana 293T. Foi desenvolvida para proporcionar um sistema estável e eficiente para a produção transitória de retrovírus ecotrópicos de alto título. A linha celular foi construída utilizando novas construções de empacotamento nas quais a expressão dos genes estruturais virais — gag-pol e env — é impulsionada pelo promotor EF1 $\alpha$  humano, que é substancialmente mais potente nas células 293T do que o promotor convencional de repetição terminal longa (LTR) do MuLV. Este desenho garante uma atividade transcricional robusta e suporta a produção de alto nível dos componentes virais necessários para a montagem e empacotamento eficientes do retrovírus.

As células Plat-E foram geradas através da transfecção estável sequencial das construções pEnv-IRES-puro e pGag-pol-IRES-bsr, que ligam os genes virais a marcadores de resistência aos antibióticos através de sítios internos de entrada no ribossoma (IRES). Esta configuração garante que apenas as células que expressam os genes virais essenciais também adquiram resistência aos antibióticos, permitindo a seleção de subclones de alta expressão. A linha Plat-E resultante produz consistentemente retrovírus com títulos de até  $1 \times 10^7$  unidades infecciosas por mililitro durante pelo menos quatro meses quando cultivada sob seleção dupla com puomicina e blasticidina. Análises de Northern blot, atividade da transcriptase reversa e citometria de fluxo confirmaram que a Plat-E exibe uma expressão significativamente mais elevada de gag-pol e env do que linhas de empacotamento predecessoras, tais como a Bosc23 e a Phoenix-E.

A arquitetura da Plat-E minimiza o risco de gerar retrovírus com capacidade de replicação (RCR), limitando as construções de empacotamento apenas às regiões codificantes necessárias dos genes estruturais virais e separando-as em diferentes plasmídeos. Este desenho requer pelo menos três eventos de recombinação para produzir RCR, aumentando assim a biossegurança. O Plat-E revelou-se útil em aplicações de transferência genética, incluindo a transdução eficiente de células primárias, tais como células T e mastócitos. O seu desempenho e estabilidade a longo prazo tornam-no uma plataforma fiável para a produção de vetores retrovirais, tanto na investigação básica como no desenvolvimento pré-clínico de terapia genética.

**Organism** Humano

**Tissue** Rim fetal

**Synonyms** Platinum-E

### Caraterísticas

**Age** Feto

**Gender** Feminino

**Growth properties** Aderente

### Dados regulamentares

**Células PLAT-E | 305855**

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Citation</b>             | PLAT-E (número de catálogo da Cytion 305855)   |
| <b>Biosafety level</b>      | 1  |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606   |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_B488  |
| <b>GMO Status</b>           | GMO-S1: Esta linha celular de empacotamento retroviral (PLAT-E) contém construções que codificam gag-pol e env sob o controlo do promotor EF1 $\alpha$ , permitindo a produção de partículas retrovirais ecotrópicas. As modificações estão presentes de forma estável em células derivadas de HEK293T. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países. |

**Dados biomoleculares**

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

**Manuseamento**

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Culture Medium</b>       | RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)  |
| <b>Supplements</b>          | Completar o meio com 10% de FBS   |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase  |
| <b>Seeding density</b>      | 1 a 4 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup>   |
| <b>Fluid renewal</b>        | 2 a 3 vezes por semana  |
| <b>Freeze medium</b>        | Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio. |

## Células PLAT-E | 305855

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células PLAT-E | 305855

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.