

## Celule PLAT-E | 305855

## Informații generale

## Description

Plat-E (Platinum-E) este o linie celulară de ambalare a retrovirusurilor, obținută prin inginerie genetică pe baza liniei celulare renale embrionare umane 293T. Aceasta a fost dezvoltată pentru a oferi un sistem stabil și eficient pentru producția tranzitorie de retrovirusuri ecotrope cu titru ridicat. Linia celulară a fost construită folosind constructe de ambalare noi, în care expresia genelor structurale virale - gag-pol și env - este determinată de promotorul EF1 $\alpha$  uman, care este substanțial mai puternic în celulele 293T decât promotorul convențional MuLV cu repetiție terminală lungă (LTR). Acest design asigură o activitate transcripțională robustă și susține producția la nivel ridicat a componentelor virale necesare pentru asamblarea și ambalarea eficientă a retrovirusului.

Celulele Plat-E au fost generate prin transfecție stabilă secvențială a constructelor pEnv-IRES-puror și pGag-pol-IRES-bsr, care leagă genele virale de markerii de rezistență la antibiotice prin intermediul situsurilor interne de intrare în ribozom (IRES). Această configurație garantează că numai celulele care exprimă genele virale esențiale dobândesc, de asemenea, rezistență la antibiotice, permițând selecția subclonelor cu expresie ridicată. Linia Plat-E rezultată produce în mod constant retrovirusuri cu titruri de până la  $1 \times 10^7$  unități infecțioase pe mililitru timp de cel puțin patru luni atunci când este cultivată sub selecție dublă cu puromicină și blasticidină. Analizele Northern blot, ale activității transcriptazei inverse și ale citometriei în flux au confirmat că Plat-E prezintă o expresie semnificativ mai mare a gag-pol și env decât liniile de ambalare predecesoare, precum Bosc23 și Phoenix-E.

Arhitectura Plat-E minimizează riscul de a genera retrovirusuri competente de replicare (RCR) prin limitarea constructelor de ambalare doar la regiunile de codificare necesare ale genelor structurale virale și separarea acestora pe plasmide diferite. Acest design necesită cel puțin trei evenimente de recombinare pentru a produce RCR, sporind astfel biosecuritatea. Plat-E s-a dovedit util în aplicații de transfer genetic, inclusiv transducția eficientă a celulelor primare, cum ar fi celulele T și mastocitele. Performanța și stabilitatea sa pe termen lung îl fac o platformă fiabilă pentru producția de vectori retrovirali atât în cercetarea fundamentală, cât și în dezvoltarea preclinică a terapiei genice.

**Organism** Om

**Tissue** Rinichiul fetal

**Synonyms** Platinum-E

## Caracteristici

**Age** Fetusul

**Gender** Femei

**Growth properties** Aderent

## Date de reglementare

## Celule PLAT-E | 305855

<b>Citation</b>	PLAT-E (număr de catalog Cytion 305855)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B488
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Această linie celulară de ambalare retrovirală (PLAT-E) conține construcții care codifică gag-pol și env sub controlul promotorului EF1α, facilitând producția de particule retrovirale ecotrope. Modificările sunt prezente în mod stabil în celulele derivate din HEK293T. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

## Date biomoleculare

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

## Manipulare

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (număr articol Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Suplimentați mediul cu 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Seeding density</b>	$1-4 \times 10^4$ celule/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	de 2 până la 3 ori pe săptămână
<b>Freeze medium</b>	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

## Celule PLAT-E | 305855

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosferă umidificată.

### Flask Coating

Niciuna

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Celule PLAT-E | 305855

### Controlul calității / Profil genetic / HLA

#### **Sterility**

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.