

## PLAT-E-celler | 305855

## Allmän information

## Description

Plat-E (Platinum-E) är en cellinje för retroviruspaketering som har framställts utifrån den humana embryonala njurcellinjen 293T. Den har utvecklats för att tillhandahålla ett stabilt och effektivt system för tillfällig produktion av ekotropa retrovirus med hög titer. Cellinjen konstruerades med hjälp av nya förpackningskonstruktioner där uttrycket av virala strukturgener – gag-pol och env – drivs av den humana EF1 $\alpha$ -promotorn, som är betydligt mer potent i 293T-celler än den konventionella MuLV-promotorn med lång terminal repetition (LTR). Denna design säkerställer robust transkriptionsaktivitet och stödjer högproduktion av virala komponenter som är nödvändiga för effektiv retrovirusmontering och förpackning.

Plat-E-celler genererades genom sekventiell stabil transfektion av pEnv-IRES-puror- och pGag-pol-IRES-bsr-konstruktioner, vilka kopplar de virala generna till antibiotikaresistensmarkörer via interna ribosominträdesställen (IRES). Denna konfiguration garanterar att endast celler som uttrycker de essentiella virala generna också får antibiotikaresistens, vilket möjliggör selektion av subkloner med högt uttryck. Den resulterande Plat-E-linjen producerar konsekvent retrovirus med titrar upp till  $1 \times 10^7$  infektiösa enheter per milliliter under minst fyra månader när den odlas under dubbel selektion med puromycin och blasticidin. Northern blot-, revers transkriptasaktivitets- och flödescytometrianalyser bekräftade att Plat-E uppvisar signifikant högre gag-pol- och env-expression än tidigare förpackningslinjer såsom Bosc23 och Phoenix-E.

Plat-E:s arkitektur minimerar risken för att generera replikationskompetenta retrovirus (RCR) genom att begränsa förpackningskonstruktionerna till endast de nödvändiga kodande regionerna av de virala strukturgenerna och separera dem på olika plasmider. Denna design kräver minst tre rekombinationshändelser för att producera RCR, vilket därmed förbättrar biosäkerheten. Plat-E har visat sig vara användbart i genöverföringsapplikationer, inklusive effektiv transduktion av primära celler såsom T-celler och mastceller. Dess prestanda och långsiktiga stabilitet gör det till en pålitlig plattform för produktion av retrovirala vektorer inom både grundforskning och preklinisk utveckling av genterapi.

**Organism** Människan

**Tissue** Fetal njure

**Synonyms** Platinum-E

## Egenskaper

**Age** Foster

**Gender** Kvinna

**Growth properties** Följsam

## Lagstadgade uppgifter

## PLAT-E-celler | 305855

<b>Citation</b>	PLAT-E (Cytion-artikelnummer 305855)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B488
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Denna retrovirala förpackningscellinje (PLAT-E) innehåller konstruktioner som kodar för gag-pol och env under kontroll av EF1 $\alpha$ -promotorn, vilket möjliggör produktion av ekotropa retrovirala partiklar. Modifikationerna förekommer stabilt i celler som härstammar från HEK293T. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

## Biomolekylära data

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

## Hantering

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820700a)
<b>Supplements</b>	Komplettera mediet med 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Seeding density</b>	1 till $4 \times 10^4$ cell <sup>er</sup> /cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 till 3 gånger per vecka
<b>Freeze medium</b>	Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## PLAT-E-celler | 305855

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca  $-150$  till  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Förvaring vid  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

**PLAT-E-celler | 305855**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.