PLAT-E

305855

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Description

Plat-E (Platinum-E) est une lignée cellulaire d'encapsidation 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'encapsidation dans lesquelles l'expression des gènes structuraux viraux – gag-pol et env – est régulée par le promoteur EF1α 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'encapsidation efficaces des rétrovirus.
Les cellules Plat-E ont été générées par transfection stable séquentielle des constructions pEnv-IRES-puror 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 1×10^7 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'encapsidation 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'encapsidation 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.

Tissu	Rein fœtal

Synonymes

- Platinum-E

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Sexe	Femme
Propriétés de croissance	Adepte
Statut OGM	GMO-S1

Informations détaillées sur le statut OGM

GMO-S1: This retroviral packaging cell line (PLAT-E) contains constructs encoding gag-pol and env under EF1α promoter control, supporting production of ecotropic retroviral particles. The modifications are stably present in HEK293T-derived cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Niveau de biosécurité	1

IDENTIFIANTS

Référence

PLAT-E (référence Cytion 305855)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B488

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.

Compléments alimentaires

Compléter le milieu avec 10% de FBS

Réactif de dissociation	Accutase
Densité de semis	1 à 4 × 10^4 cellules/cm^2
Renouvellement des fluides	2 à 3 fois par semaine

Décongélation et mise en culture

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

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.

Milieu de congélation	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 cryogénisation.

Conditions de stockage

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.

Conditions de livraison

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.

DONATEUR

Âge du donneur	Fœtus

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Avertissement

Nos cellules sont fournies exclusivement à des fins de recherche in vitro en laboratoire et ne sont pas destinées à un usage clinique ou diagnostique, ni à être administrées à des êtres humains ou utilisées à des fins vétérinaires. Les utilisateurs doivent se conformer à toutes les directives et réglementations applicables à la manipulation et à l'utilisation de ces cellules dans un cadre de recherche.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Un accord de transfert de matériel est requis	Yes