PLAT-E

305855

GENERAL INFORMATION

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 de la répétition terminale longue (LTR) du MuLV. Cette conception garantit une activité transcriptionnelle robuste et permet une production à haut débit 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 dont les titres atteignent jusqu'à 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 des plasmides distincts. Cette conception nécessite au moins trois événements de recombinaison pour produire un RCR, ce qui renforce la biosécurité. Plat-E s'est avérée 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.

Tissue	Rein fœtal

Synonyms

- Platinum-E

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

PLAT-E (numéro de catalogue 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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B488

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Supplements

Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation reagent	Accutase
Seeding density	de 1 à 4 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.
Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Storage conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Shipping conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d’environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONOR

Donor age	Fœtus

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu'on prévoit entreposer un cryotube dans de l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d'échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d'éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Disclaimer

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; elles ne doivent pas non plus être administrées à des humains ni utilisées à des fins vétérinaires. Les utilisateurs doivent respecter toutes les lignes directrices et tous les règlements applicables concernant la manipulation et l'utilisation de ces cellules dans un contexte de recherche.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant
60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le
certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre
déclaration de garantie.

Material Transfer Agreement required	Yes

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