PLAT-E

305855

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

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 EF1α 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 em 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-puror 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 1×10^7 unidades infecciosas por mililitro durante pelo menos quatro meses quando cultivada sob seleção dupla com puromicina 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.

Tecido	Rim fetal

Sinónimos

- Platinum-E

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos 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.

Nível de biossegurança	1

IDENTIFICADORES

Referência

PLAT-E (número de catálogo da Cytion 305855)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B488

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase
Densidade de sementeira	1 a 4 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

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 inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

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.

Condições de envio

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

DOADOR

Idade do dador	Feto

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Aviso legal

As nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de investigação laboratorial in vitro e não se destinam a utilização clínica ou de diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os utilizadores devem aderir a todas as diretrizes e regulamentos aplicáveis para o manuseamento e utilização destas células num ambiente de investigação.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes