PLAT-E

305855

GENERAL INFORMATION

Description

A Plat-E (Platinum-E) é uma linhagem celular de empacotamento de retrovírus, criada a partir da linhagem celular renal embrionária humana 293T. Ela foi desenvolvida para fornecer 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 regulada pelo promotor EF1α humano, que é substancialmente mais potente nas células 293T do que o promotor convencional de repetição terminal longa (LTR) do MuLV. Esse projeto garante uma atividade transcricional robusta e permite a produção em alto nível dos componentes virais necessários para a montagem e empacotamento eficientes do retrovírus.
As células Plat-E foram geradas por meio da transfecção estável sequencial das construções pEnv-IRES-puror e pGag-pol-IRES-bsr, que ligam os genes virais a marcadores de resistência a antibióticos por meio de sítios internos de entrada no ribossomo (IRES). Essa 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 linhagem Plat-E resultante produz consistentemente retrovírus com títulos de até 1×10^7 unidades infecciosas por mililitro por 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 expressão significativamente maior de gag-pol e env do que linhas de empacotamento predecessoras, como a Bosc23 e a Phoenix-E.
A arquitetura da Plat-E minimiza o risco de geração de retrovírus com capacidade de replicação (RCR) ao limitar as construções de empacotamento apenas às regiões codificantes necessárias dos genes estruturais virais e separá-las em plasmídeos diferentes. Esse projeto requer pelo menos três eventos de recombinação para produzir RCR, aumentando assim a biossegurança. O Plat-E tem se mostrado útil em aplicações de transferência gênica, incluindo a transdução eficiente de células primárias, como células T e mastócitos. Seu desempenho e estabilidade a longo prazo o tornam uma plataforma confiável para a produção de vetores retrovirais, tanto na pesquisa básica quanto no desenvolvimento pré-clínico de terapia gênica.

Tissue	Rim fetal

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 (número de catálogo da Cytion 305855)

NCBI TaxID	9606

Cellosaurus	CVCL_B488

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion: 820700a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	Accutase
Seeding density	1 a 4 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

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

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	Feto

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Disclaimer

Nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de pesquisa laboratorial in vitro e não se destinam ao uso clínico ou diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os usuários devem cumprir todas as diretrizes e regulamentações aplicáveis ao manuseio e uso dessas células em um ambiente de pesquisa.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

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