# PLAT-E

305855

## SPLOŠNE INFORMACIJE

### Opis

Plat-E (Platinum-E) je celična linija za pakiranje retrovirusov, ki je bila ustvarjena na podlagi človeških embrionalnih ledvičnih celic 293T. Razvita je bila z namenom zagotoviti stabilen in učinkovit sistem za prehodno proizvodnjo ekotropnih retrovirusov z visokim titrom. Celična linija je bila konstruirana z uporabo novih konstrukcij za pakiranje, v katerih izražanje virusnih strukturnih genov – gag-pol in env – poganja človeški promotor EF1α, ki je v celicah 293T bistveno močnejši od konvencionalnega promotorja MuLV z dolgim terminalnim ponovitvijo (LTR). Ta zasnova zagotavlja močno transkripcijsko aktivnost in podpira visoko raven proizvodnje virusnih komponent, potrebnih za učinkovito sestavljanje in pakiranje retrovirusov.
Celice Plat-E so bile ustvarjene s sekvenčno stabilno transfekcijo konstruktov pEnv-IRES-puror in pGag-pol-IRES-bsr, ki povezujejo virusne gene z markerji odpornosti proti antibiotikom prek notranjih mest za vstop v ribosom (IRES). Ta konfiguracija zagotavlja, da le celice, ki izražajo bistvene virusne gene, pridobijo tudi odpornost proti antibiotikom, kar omogoča selekcijo podklonov z visoko ekspresijo. Rezultatna linija Plat-E dosledno proizvaja retroviruse s titri do $1 \times 10^7$ infekcijskih enot na mililiter vsaj štiri mesece, ko se goji v dvojni selekciji s puromicinom in blasticidinom. Analize Northern blot, aktivnosti reverzne transkriptaze in pretočne citometrije so potrdile, da Plat-E kaže znatno višjo ekspresijo gag-pol in env kot predhodne linije za pakiranje, kot sta Bosc23 in Phoenix-E.
Arhitektura Plat-E zmanjšuje tveganje za nastanek retrovirusa, sposobnega za replikacijo (RCR), tako da omeji pakirne konstrukte le na potrebne kodirne regije virusnih strukturnih genov in jih loči na različne plazmide. Ta zasnova zahteva vsaj tri rekombinacijske dogodke za proizvodnjo RCR, s čimer se poveča biološka varnost. Plat-E se je izkazal za koristnega v aplikacijah za prenos genov, vključno z učinkovitim prenosom v primarne celice, kot so T-celice in mastociti. Zaradi svoje učinkovitosti in dolgoročne stabilnosti je zanesljiva platforma za proizvodnjo retrovirusnih vektorjev tako v temeljnem raziskovanju kot v predkliničnem razvoju genske terapije.

| | |
|---|---|
| **Tkivo** | Plodova ledvica |

### Sinonimi

- Platinum-E

## RAZVRSTITEV

| | |
|---|---|
| **Organizem** | Človek |
| **Seks** | Ženska |
| **Lastnosti rasti** | Pripadnik |
| **Status GSO** | GMO-S1 |

### Podrobnosti o statusu GSO

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.

| | |
|---|---|
| **Stopnja biološke varnosti** | 1 |

## IDENTIFIKATORJI

### Navajanje vira

PLAT-E (kataloška številka Cytion 305855)

| | |
|---|---|
| **Davčna identifikacijska številka NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_B488 |

## RAVNANJE IN GOJENJE

**Gojišče**

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820700a)

| | |
|---|---|
| **Inkubacijska atmosfera** | 37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje. |

**Prehranska dopolnila**

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

| | |
|---|---|
| **Reagenca za disociacijo** | Accutase |
| **Gostota setve** | 1 do 4 x $10^4$ celic/$cm^2$ |
| **Obnova tekočine** | 2 do 3-krat na teden |

**Odtaljevanje in gojenje**

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.

## KONTROLA KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

**Sterilnost**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

| | |
|---|---|
| **Medij za zamrzovanje** | Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom. |

**Pogoji shranjevanja**

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

**Pogoji dostave**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## DONATOR

| | |
|---|---|
| **Starost darovalca** | Plod |

## PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

### Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

### Izjava o omejitvi odgovornosti

Naše celice so na voljo izključno za laboratorijske raziskave in vitro in niso namenjene za klinično ali diagnostično uporabo, niti jih ni dovoljeno dajati ljudem ali uporabljati v veterinarske namene. Uporabniki morajo upoštevati vse veljavne smernice in predpise za ravnanje in uporabo teh celic v raziskovalnem okolju.

### Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

| | |
|---|---|
| **Potreben je sporazum o prenosu materiala** | Yes |