CRFK

305534

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

CRFK (Crandell-Rees Feline Kidney) ląstelių linija yra gerai žinomas modelis, gautas iš normalaus kačių embriono inkstų žievės. Ji plačiai naudojama virusologijos tyrimuose, ypač kačių virusų, pvz., kačių infekcinio peritonito viruso (FIPV) ir kačių herpesviruso (FHV-1), tyrimams. CRFK ląstelės yra labai imlios įvairiems kačių virusams, todėl jos yra nepakeičiamos kuriant vakcinas ir atliekant virusologinius tyrimus. Pavyzdžiui, šios ląstelės naudojamos gyvų susilpnintų vakcinų, pvz., FVRCP vakcinų, apsaugančių nuo kačių rinotracheito, kaliciviruso ir panleukopenijos, gamybai ir bandymams. Šios ląstelių linijos vaidmuo virusų replikacijos tyrimuose leido gauti svarbių įžvalgų apie šeimininko ir viruso sąveiką bei viruso sukeliamus citopatinius efektus, pavyzdžiui, sincitijų susidarymą ir ląstelių morfologijos pokyčius.
Naujausi tyrimai atkreipė dėmesį į iššūkius, susijusius su CRFK ląstelių naudojimu vakcinų kūrimui dėl endogeninių retrovirusų (ERV) keliamos užteršimo rizikos. Konkrečiai, CRFK ląstelės per rekombinacijos procesus gali gaminti užkrečiamą RD-114 virusą – kačių endogeninį retrovirusą. Siekiant išspręsti šias saugos problemas, buvo panaudotos genomo redagavimo technologijos, pavyzdžiui, TALEN, siekiant išjungti RD-114 susijusių sekų env genus, taip sumažinant ERV užteršimo riziką vakcinos gamybos procese. Šios modifikacijos nekenkia CRFK ląstelių gyvybingumui, o modifikuotos RDKO_CRFK ląstelės pasižymi geresniais saugumo rodikliais, todėl jas galima naudoti biologinių preparatų gamyboje.
Be to, CRFK ląstelių transkriptomikos analizės parodė, kad reaguodamos į virusines infekcijas jos pasižymi skirtingais genų ekspresijos profiliais. Užsikrėtus FIPV, CRFK ląstelės suaktyvina įvairius su imunine sistema susijusius signalinius kelius, įskaitant Toll tipo receptorių signalizaciją, MAPK ir JAK-STAT signalinius kelius, tuo pačiu žymiai slopindamos signalinius kelius, susijusius su neuronų ir ląstelių organizavimusi. Šie ekspresijos pokyčiai atspindi įgimtą imuninį atsaką, aktyvuojamą epitelio ląstelėse, ir išryškina skirtumus, palyginti su pirminėmis imuninėmis ląstelėmis, pavyzdžiui, makrofagais, kurie panašiomis sąlygomis rodo skirtingą šeimininko atsaką. Tokie rezultatai pabrėžia CRFK ląstelių naudą modeliuojant ankstyvųjų stadijų šeimininko ir patogeno sąveikas bei vertinant antivirusines strategijas.

Audinys	Inkstai

Paraiškos

Plačiai naudojamas vakcinų nuo parvovirusų, pavyzdžiui, kačių panleukopenijos viruso (FPLV) ir šunų parvovirusų (CPV), gamybai

Sinonimai

- CrFK
- Crfk
- NBL-CrFK
- Crandell Reese Feline Kidney
- CFK
- Crandell Feline Kidney
- CCC
- Crandell's Cat Cell

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Katė
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Į epitelį panašus

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

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

CRFK (Cytion katalogo numeris 305534)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9685
Cellosaurus	CVCL_2426

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Virusai

Nuolatinė infekcija kačių endogeniniu virusu RD-114

Jautrumas virusams

Kačių panleukopenijos virusas, kačių kalicivirusas, reovirusas (kačių), kačių herpesvirusas 1, šunų parvovirusas, pasiutligės virusas, galvijų virusinės diarėjos virusas 1

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L $NaHCO_3$, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO_2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Pridėkite į terpę 10 % arklių serumo

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Skysčių atnaujinimas	2-3 kartus per savaitę

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	3 mėnesiai

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Reikalinga medžiagų perdavimo sutartis	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