CRFK

305534

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

CRFK (Crandell-Rees Feline Kidney) šūnu līnija ir labi izstrādāts modelis, kas iegūts no normāla kaķu embrija nieru garozas. To plaši izmanto viroloģijas pētījumos, jo īpaši kaķu vīrusu, piemēram, kaķu infekciozā peritonīta vīrusa (FIPV) un kaķu herpesvīrusa (FHV-1), izpētē. CRFK šūnas ir ļoti uzņēmīgas pret dažādiem kaķu vīrusiem, kas tās padara neaizstājamas vakcīnu izstrādē un viroloģiskajos testos. Piemēram, šīs šūnas izmanto dzīvu vājinātu vakcīnu, piemēram, FVRCP vakcīnu, ražošanā un testēšanā, kas aizsargā pret kaķu rinotraheītu, kalicivīrusu un panleikopēniju. Šīs šūnu līnijas loma vīrusu replikācijas pētījumos ir sniegusi būtiskas atziņas par saimnieka un vīrusa mijiedarbību un vīrusa izraisītiem citopātiskiem efektiem, piemēram, sincitiju veidošanos un šūnu morfoloģijas izmaiņām.
Nesenie pētījumi ir izgaismojuši problēmas, kas saistītas ar CRFK šūnu izmantošanu vakcīnu izstrādē, jo pastāv endogēno retrovīrusu (ERV) radīts piesārņojuma risks. Konkrēti, CRFK šūnas rekombinācijas procesa rezultātā var ražot infekciozo RD-114 vīrusu — kaķu endogēno retrovīrusu. Lai novērstu šīs drošības bažas, ir izmantotas genoma rediģēšanas tehnoloģijas, piemēram, TALEN, lai izslēgtu RD-114 saistīto sekvenču env gēnus, tādējādi samazinot ERV kontaminācijas risku vakcīnu ražošanā. Šīs modifikācijas neietekmē CRFK šūnu dzīvotspēju, un ģenētiski modificētās RDKO_CRFK šūnas ir parādījušas uzlabotus drošības rādītājus izmantošanai bioloģisko zāļu ražošanā.
Turklāt CRFK šūnu transkriptomiskās analīzes ir parādījušas to diferencētos gēnu ekspresijas profilus reakcijā uz vīrusu infekcijām. Inficējoties ar FIPV, CRFK šūnas pastiprina dažādu ar imūnsistēmu saistītu signālceļu darbību, tostarp Toll-līdzīgo receptoru signālceļu, MAPK un JAK-STAT ceļu darbību, vienlaikus ievērojami samazinot to ceļu aktivitāti, kas saistīti ar neironu un šūnu organizāciju. Šīs ekspresijas izmaiņas atspoguļo iedzimto imūnreakciju, kas tiek aktivizēta epitēlija šūnās, un izceļ atšķirības salīdzinājumā ar primārām imūnsistēmas šūnām, piemēram, makrofāgiem, kuriem līdzīgos apstākļos novēro atšķirīgas saimnieka reakcijas. Šādi atklājumi uzsver CRFK šūnu lietderību agrīnās stadijas saimnieka un patogēna mijiedarbības modelēšanā un pretvīrusu stratēģiju novērtēšanā.

Audums	Nieres

Pieteikumi

To plaši izmanto, lai ražotu vakcīnas pret parvovīrusiem, piemēram, kaķu panleikopēnijas vīrusu (FPLV) un suņu parvovīrusiem (CPV)

Sinonīmi

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

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Kaķis
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs

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

IDENTIFIKATORI

Atsauce

CRFK (Cytion kataloga numurs 305534)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9685
Cellosaurus	CVCL_2426

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Vīrusi

Ilgstoši inficēts ar kaķu endogēno vīrusu RD-114

Jutība pret vīrusiem

Kaķu panleikopēnijas vīruss, kaķu kalicivīruss, reovīruss (kaķiem), kaķu herpesvīruss 1, suņu parvovīruss, trakumsērgas vīruss, liellopu vīrusu diarejas vīruss 1

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Pievienojiet barotnei 10 % zirga seruma

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	3 mēneši

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes