CRFK

305534

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

CRFK (Crandell-Rees Feline Kidney) -solulinja on vakiintunut malli, joka on peräisin normaalin kissanalkion munuaiskuoresta. Sitä käytetään laajalti virologisessa tutkimuksessa, erityisesti kissavirusten, kuten kissan tarttuvan peritoniittiviruksen (FIPV) ja kissan herpesviruksen (FHV-1), tutkimuksessa. CRFK-solut ovat erittäin alttiita erilaisille kissaviruksille, minkä vuoksi ne ovat korvaamattomia rokotteiden kehittämisessä ja virologisissa määrityksissä. Näitä soluja käytetään esimerkiksi elävien heikennettyjen rokotteiden, kuten FVRCP-rokotteiden, tuotannossa ja testauksessa. Nämä rokotteet suojaavat kissan rinotrakeiitiltä, kalikivirukselta ja panleukopeniasta. Solulinjan rooli virusten replikaatiotutkimuksissa on tuonut esiin tärkeitä havaintoja isäntä-virus-vuorovaikutuksista ja virusten aiheuttamista sytopaattisista vaikutuksista, kuten synkytiumien muodostumisesta ja solujen morfologian muutoksista.
Viimeaikaiset tutkimukset ovat tuoneet esiin haasteita, jotka liittyvät CRFK-solujen käyttöön rokotteiden kehittämisessä endogeenisten retrovirusten (ERV) aiheuttamien kontaminaatioriskien vuoksi. Erityisesti CRFK-solut voivat tuottaa tarttuvaa RD-114-virusta, joka on kissan endogeeninen retrovirus, rekombinaatiotapahtumien kautta. Näiden turvallisuusriskien ratkaisemiseksi on käytetty genominmuokkaustekniikoita, kuten TALEN-tekniikkaa, RD-114-sekvensseihin liittyvien env-geenien poistamiseksi, mikä vähentää ERV-kontaminaation riskiä rokotetuotannossa. Nämä muutokset eivät heikennä CRFK-solujen elinkelpoisuutta, ja muokatut RDKO_CRFK-solut ovat osoittaneet parantuneita turvallisuusprofiileja biologisten lääkkeiden valmistuksessa.
Lisäksi CRFK-solujen transkriptomianalyysit ovat osoittaneet niiden erilaiset geenieksprессioprofiilit vasteena virusinfektioille. FIPV-infektion yhteydessä CRFK-solut aktivoivat useita immuunijärjestelmään liittyviä reittejä, kuten Toll-kaltaisten reseptorien signalointia, MAPK- ja JAK-STAT-reittejä, samalla kun ne ilmentävät merkittävää alenemaa hermosolujen ja solujen organisoitumiseen liittyvissä reiteissä. Nämä ilmentymismuutokset heijastavat epiteelisoluissa aktivoituvia luontaisia immuunivasteita ja korostavat eroja verrattuna primaarisiin immuunisoluihin, kuten makrofageihin, jotka osoittavat erilaisia isäntävasteita vastaavissa olosuhteissa. Tällaiset havainnot korostavat CRFK-solujen hyödyllisyyttä varhaisvaiheen isäntä-patogeenivuorovaikutusten mallintamisessa ja antiviraalisten strategioiden arvioinnissa.

Kudos	Munuaiset

Sovellukset

Käytetään laajalti parvovirusten, kuten kissan panleukopenia-viruksen (FPLV) ja koiran parvovirusten (CPV), rokotteiden valmistuksessa

Synonyymit

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

LUOKITTELU

Organismi	Kissa
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
Bioturvallisuustaso	1

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

OMINAISUUDET

Morfologia	Epiteelin kaltainen

TUNNISTEET

Lähdeviite

CRFK (Cytionin tuotenumero 305534)

NCBI-verotunnus	9685
Cellosaurus	CVCL_2426

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Virukset

Kroonisesti tartunnan saanut kissan endogeenisellä RD-114-viruksella

Viruksille altistuminen

Kissan panleukopenia-virus, kissan kalikivirus, reovirus (kissa), kissan herpesvirus 1, koiran parvovirus, raivotautivirus, naudan virusdiarrea-virus 1

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Lisää elatusaineeseen 10 % hevosen seerumia

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	3 kuukautta

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	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