CRFK

305534

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

CRFK-cellelinjen (Crandell-Rees Feline Kidney) er en veletablert modell som stammer fra nyrebarken til et normalt katteembryo. Den brukes mye i virologisk forskning, særlig til studier av kattevirus som felint infeksjonst peritonittvirus (FIPV) og felint herpesvirus (FHV-1). CRFK-celler er svært mottakelige for ulike kattevirus, noe som har gjort dem uvurderlige for vaksineutvikling og virologiske analyser. Disse cellene brukes for eksempel i produksjon og testing av levende, svekkede vaksiner, som FVRCP-vaksiner, som beskytter mot felin rhinotracheitt, calicivirus og panleukopeni. Cellelinjens rolle i studier av virusreplikasjon har gitt viktig innsikt i interaksjoner mellom vert og virus samt virusinduserte cytopatiske effekter, som dannelse av syncytier og endringer i cellemorfologi.
Nyere forskning har pekt på utfordringer knyttet til bruk av CRFK-celler i vaksineutvikling på grunn av kontamineringsrisiko fra endogene retrovirus (ERV-er). Spesielt kan CRFK-celler produsere det smittsomme RD-114-viruset, et endogent retrovirus hos katter, gjennom rekombinasjonshendelser. For å imøtekomme disse sikkerhetshensynene har man benyttet genomredigeringsteknologier som TALEN-er for å slå ut env-genene i de RD-114-relaterte sekvensene, noe som reduserer risikoen for ERV-kontaminering i vaksineproduksjonen. Disse modifikasjonene svekker ikke levedyktigheten til CRFK-cellene, og de genmodifiserte RDKO_CRFK-cellene har vist forbedrede sikkerhetsprofiler for bruk i produksjon av biologiske legemidler.
Videre har transkriptomiske analyser av CRFK-celler vist at de har forskjellige genuttrykkprofiler som respons på virusinfeksjoner. Ved infeksjon med FIPV oppregulerer CRFK-cellene ulike immunrelaterte signalveier, inkludert Toll-lignende reseptorsignalering, MAPK og JAK-STAT-signalveier, samtidig som de viser en betydelig nedregulering av signalveier involvert i nevronal og cellulær organisering. Disse uttrykksendringene gjenspeiler de medfødte immunresponsene som aktiveres i epitelceller og fremhever forskjeller sammenlignet med primære immunceller, slik som makrofager, som viser tydelige vertsresponser under lignende forhold. Slike funn understreker nytten av CRFK-celler i modellering av verts-patogen-interaksjoner i tidlige stadier og evaluering av antivirale strategier.

Vev	Nyre

Søknader

Brukes i stor utstrekning til fremstilling av vaksiner mot parvovirus, som for eksempel panleukopenivirus hos katter (FPLV) og parvovirus hos hunder (CPV)

Synonymer

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

KLASSIFISERING

Organisme	Katt
Sex	Kvinne
Vekstegenskaper	Tilhenger
Biosikkerhetsnivå	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

EGENSKAPER

Morfologi	Epitel-lignende

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

CRFK (Cytion-katalognummer 305534)

NCBI-skattenummer	9685
Cellosaurus	CVCL_2426

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Virus

Vedvarende infisert av det endogene katteviruset RD-114

Virusfølsomhet

Kattepanleukopenivirus, kattecalicivirus, reovirus (katt), felint herpesvirus 1, hundeparvovirus, rabiesvirus, bovint virusdiarévirus 1

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L $NaHCO_3$, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO_2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Tilsett 10 % hesteserum i mediet

Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Væskefornyelse	2 til 3 ganger per uke

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	3 måneder

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	Yes