

Bunky FRhK-4 | 305151**Všeobecné informácie****Description**

Bunkovú líniu FRhK-4 tvoria bunky podobné fibroblastom odvodené z obličiek plodu opice druhu rhesus (*Macaca mulatta*). Táto bunková línia sa široko používa v biomedicínskom výskume vďaka jej významu pre biológiu primátov a jej užitočnosti pri štúdiu vírusových infekcií, nefrotoxicity a fyziológie obličiek. Bunky vykazujú typickú morfológiu fibroblastov, ktorá sa vyznačuje predĺženým tvarom a rozvetvenou architektúrou, čo uľahčuje mnohé typy experimentov v oblasti bunkovej a molekulárnej biológie.

Bunky FRhK-4 sa vyznačujú najmä svojou citlivosťou na rôzne vírusy vrátane simiľského vírusu 40 (SV40) a polyomavírusu. To z nich robí vynikajúci model na štúdium mechanizmov vírusovej infekcie, replikácie a onkogenézy v systéme primátov. Okrem toho ich pôvod z obličkového tkaniva umožňuje výskumníkom skúmať bunkové reakcie na obličkové toxíny a lieky, čo z nich robí cenný nástroj na farmakologické štúdie a hodnotenie toxicity.

Genetická a fyziologická podobnosť buniek FRhK-4 s ľudskými bunkami navyše podporuje ich využitie v translačnom výskume, kde môžu mať zistenia priamy vplyv na pochopenie ochorení ľudských obličiek a vývoj terapeutických stratégií. Použitie tejto bunkovej línie v rôznych výskumných prostrediach podčiarkuje jej všestrannosť a význam vo vedeckých štúdiách, ktoré si vyžadujú model primátov iných ako človek.

Organism Makak rhesus**Tissue** Embryonálna oblička**Synonyms** FRHK-4, Frhk-4, FRhK4, Fetálna obličky Rhesus-4**Charakteristika****Age** Plod**Gender** Ženy**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** FRhK-4 (katalógové číslo Cytion 305151)**Biosafety level** 1

Bunky FRhK-4 | 305151

NCBI_TaxID 9544

CellosaurusAccession CVCL_4522

Biomolekulárne údaje**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** TrypLE™ Express Enzym**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky FRhK-4 | 305151

Thawing and Culturing Cells

1. Overtvorte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky FRhK-4 | 305151

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.