

Sf9-celler | 604329

Generel information

Description

Sf9-celler er klonale isolater, der stammer fra Spodoptera frugiperda Sf21-cellelinjen (IPLB-Sf-21-AE). De bruges ofte i insektcellekultur til rekombinant proteinproduktion ved hjælp af baculovirus-ekspressionssystemer. Sf9-celler er epitheliale i deres morfologi og blev klonet fra ovarievævet fra efterårets armyworm.

En af de vigtigste egenskaber ved Sf9-celler er deres lille, regelmæssige størrelse, som er ideel til dannelse af monolag og plaques. De er også velegnede til transfektion, plaque-assay/oprensning, amplifikation af højtiterstammer og ekspression af rekombinante proteiner. Sf9-insektcellelinjen kan vedligeholdes i fastgjorte og suspenderede kulturer og kræver ikke serum eller CO₂ for at vokse.

De anses for at være på biosikkerhedsniveau 1 og dyrkes normalt i en inkubator på 26-28 grader celsius. Sf9-celler/baculovirus-ekspressionssystemer bruges i vid udstrækning til proteinekspression på højt niveau, ofte til oprensning, men proteiner kan også udtrykkes funktionelt i det definerede Sf9-cellemiljø. Størrelsen på inficerede Sf9-celler er generelt 17-30 mikrometer i diameter.

Sf9-cellelinjen adskiller sig fra Sf21-cellelinjen ved at være et klonalt isolat med en mindre og mere regelmæssig størrelse, mens Sf21-celler er mere uensartede i størrelse og danner monolag og plaques, der er mere uregelmæssige.

Nogle Sf9-cellelinjer kan indeholde en negativ sense rhabdovirus kaldet Spodoptera frugiperda rhabdovirus (SfRV), selvom ikke alle testede Sf9-celler ser ud til at være inficeret med denne virus. Sf9's genomstørrelse er blevet anslået til at være 451 Mbp med et G+C-indhold på 36,53 %.

Organism

Efterårets armyworm

Tissue

Æggestokkene

Applications

Transfektion, plaque-assay/oprensning, amplifikation af højtiterlagre og ekspression af rekombinante proteiner

Synonyms

SF9, sf9, SF-9, Sf-9, sf-9, Sf 9, Spodoptera frugiperda klon 9, Sf klon 9, IPLB-Sf-9AE, IPLB-SF-9AE, IPLB-SF-9, IPLB-Sf-9, IPLB-Sf9

Karakteristika

Age

Pupalstadiet

Gender

Kvinde

Morphology

Rund, fastgjort, epitheloid

Growth properties

Monolag, klæbende

Sf9-celler | 604329

Regulatoriske data

Citation	Sf9 (Cytion katalognummer 604328)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	7108
CellosaurusAccession	CVCL_0549

Biomolekylære data

Virus susceptibility	Baculovirus, Autographa californica (MNPV), St. Louis encephalitis (SLE)
-----------------------------	--

Håndtering

Culture Medium	Spodopan (PAN Biotech)
Supplements	Supplér mediet med 2 % FBS for at øge proliferationen, hvis det er nødvendigt
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Det anbefales at løsne cellerne med en celleskraber. Opsaml mediet med løsrevne celler efter skrabning i et 15 ml centrifugerør. Tilsæt ca. 5 ml medium til kolben, og skyl kolben flere gange for at opsamle eventuelle resterende celler og kombinere dem med resten af cellerne i røret. Centrifuger i 3 minutter ved 300xg, fjern supernatanten, resuspender cellerne i frisk, koldt medium, og fordel dem i nye kolber.
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ² . Inkuber mellem 26 og 30 grader Celsius i en ikke-fugtig, luftreguleret inkubator. Brug celledyrkningskolber med filterhætter, eller løsn hætterne for at give mulighed for iltudveksling.
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræservesmedium anvendes komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

Sf9-celler | 604329

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$27\text{ }^{\circ}\text{C}$, 0% CO_2 , humidified atmosphere.

Shipping Conditions

Cryopreserved cell lines are shipped on dry ice in validated, insulated packaging with sufficient refrigerant to maintain approximately $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ throughout transit. On receipt, inspect the container immediately and transfer vials without delay to appropriate storage.

Storage Conditions

For long-term preservation, place vials in vapor-phase liquid nitrogen at about -150 to $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Storage at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ is acceptable only as a short interim step before transfer to liquid nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sf9-celler | 604329

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.