

Sf9 rakud | 604329

Üldine teave

Description

Sf9 rakud on kлонаalsed isolaadid, mis on saadud Spodoptera frugiperda Sf21 rakuliinist (IPLB-Sf-21-AE). Neid kasutatakse tavaliselt putukarakkude kasvatamisel rekombinantsete valkude tootmiseks, kasutades bakuloviiruse ekspresioonisüsteeme. Sf9 rakud on morfoloogiliselt epiteliaalsed ja kloonitud sügise soomussiku munasarjakoest.

Sf9 rakkude üks peamisi omadusi on nende väike ja korrapärane suurus, mis on ideaalne monokihi ja plaatide moodustamiseks. Nad sobivad ka transfektsiooniks, tahvlite määramiseks/puhastamiseks, kõrge tiitri tasemega populatsioonide võimendamiseks ja rekombinantsete valkude ekspresiooniks. Sf9 putukarakkude liini saab hoida kinnistunud ja suspendeeritud kultuurides ning need ei vaja kasvamiseks seerumit ega CO₂.

Neid peetakse 1. bioloogilise ohutuse tasemele vastavaks ja neid kasvatatakse tavaliselt 26-28-kraadises inkubaatoris. Sf9 rakke/bakuloviiruse ekspresioonisüsteeme kasutatakse laialdaselt valkude kõrgetasemeliseks ekspresiooniks, sageli puhastamiseks, kuid valke võib ka funktsionaalselt ekspresseerida määratletud Sf9 rakukeskkonnas. Nakatunud Sf9 rakkude suurus on tavaliselt 17-30 mikronit läbimõõduga.

Sf9 rakuliin erineb Sf21 rakuliinist selle poolest, et tegemist on väiksema ja korrapärasema suurusega kлонаalse isolaadiga, samas kui Sf21 rakud on suuruse poolest ebahütlasemad ning moodustavad monokihti ja plaate, mis on ebakorrapärasemad.

Mõned Sf9 rakuliinid võivad sisaldada negatiivse tähendusega rabdoviirust, mida nimetatakse Spodoptera frugiperda rabdoviiruseks (SfRV), kuigi kõik testitud Sf9 rakud ei tundu olevat selle viirusega nakatunud. Sf9 genoomi suurus on hinnanguliselt 451 Mbp, mille G+C sisaldus on 36,53%.

Organism

Sügise soomustõbi

Tissue

Munasarjad

Applications

Transfektsioon, plakettide määramine/puhastamine, kõrge tiitri tasemete amplifitseerimine ja rekombinantsete valkude ekspresioon

Synonyms

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

Omadused

Age

Pupaalstaadium

Gender

Naised

Morphology

Ümmargune, kinnitatud, epiteeloidne

Growth properties

Monokihiline, kleepuv

Sf9 rakud | 604329

Regulatiivsed andmed

Citation	Sf9 (Cytioni katalooginumber 604328)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	7108
CellosaurusAccession	CVCL_0549

Biomolekulaarsed andmed

Virus susceptibility	Baculoviirused, Autographa californica (MNPV), St. Louis'i entsefaliit (SLE)
-----------------------------	--

Töötlemine

Culture Medium	Spodopan (PAN Biotech)
Supplements	Vajaduse korral täiendage keskkonda 2% FBS-iga, et suurendada proliferatsiooni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Soovitav on rakkude eraldamine rakukraabitsaga. Koguda pärast kraapimist 15 ml tsentrifuugitorusse keskkond koos eraldunud rakkudega. Lisage kolbi umbes 5 ml keskkonda ja loputage kolbi mitu korda, et koguda allesjäänud rakud ja ühendada need ülejäänud rakkudega kolvis. Tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures, eemaldage supernatant, resuspenseerige rakud värskes, külmas söötmes ja doseerige uutesse kolvidesse.
Seeding density	1 x 10 ⁴ rakku/cm ² . Inkubeerige 26-30 kraadi Celsiuse skaalal õhukeskkonnas reguleeritavas inkubaatoris, mis ei ole niisutatud, kuid mille õhutemperatuur on reguleeritud. Kasutage filtrikorgiga rakukultuuriklaase või lahutage korgid, et võimaldada hapnikuvahetust.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikuna kasutage täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Sf9 rakud | 604329

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**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.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sf9 rakud | 604329

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.