

Sf9-solut | 604328

Yleisiä tietoja

Description

Sf9-solut ovat kloonisia isolaatteja, jotka on johdettu *Spodoptera frugiperda* Sf21-solulinjasta (IPLB-Sf-21-AE). Niitä käytetään yleisesti hyönteissoluviljelyssä rekombinanttiproteiinien tuottamiseen bakulovirusten ilmentämisjärjestelmiä käyttäen. Sf9-solut ovat morfologialtaan epiteelisoluja, ja ne kloonattiin syyspistiäisen munasarjakudoksesta.

Yksi Sf9-solujen tärkeimmistä ominaisuuksista on niiden pieni ja säännöllinen koko, joka on ihanteellinen monokerrosten ja plakkien muodostamiseen. Ne soveltuvat myös transfektioon, plakkien määritykseen/puhdistukseen, korkean titterin kantojen monistamiseen ja rekombinanttiproteiinien ilmentämiseen. Sf9-hyönteissolulinjaa voidaan ylläpitää kiinnitettynä ja suspendoituna, eivätkä ne tarvitse seerumia tai hiilidioksidia kasvaakseen.

Niitä pidetään bioturvallisuustasolla 1, ja niitä kasvatetaan yleensä 26-28 celsiusasteen inkubaattorissa. Sf9-soluja/bakulovirusten ilmentämisjärjestelmiä käytetään laajalti proteiinien korkean tason ilmentämiseen, usein puhdistusta varten, mutta proteiineja voidaan myös ilmentää toiminnallisesti määritellyssä Sf9-soluympäristössä. Tartunnan saaneiden Sf9-solujen koko on yleensä 17-30 mikronia halkaisijaltaan.

Sf9-solulinja eroaa Sf21-solulinjasta siinä, että se on klonaalinen isolaatti, jolla on pienempi ja säännöllisempi koko, kun taas Sf21-solut ovat kooltaan epäyhtenäisempiä ja muodostavat epäsäännöllisempiä monokerroksia ja plakkeja.

Joissakin Sf9-solulinjoissa saattaa esiintyä negatiivisen aistimuksen omaava rabdovirus nimeltä *Spodoptera frugiperda* -rabdovirus (SfRV), vaikka kaikki testatut Sf9-solut eivät näytä olevan tämän viruksen tartuttamia. Sf9:n genomin kooksi on arvioitu 451 Mbp ja G+C-pitoisuudeksi 36,53 %.

Organism

Syksyn panssarimato

Tissue

Munasarja

Applications

Transfektio, plakkimääritys/puhdistus, korkean titterin kantojen monistaminen ja rekombinanttiproteiinien ilmentäminen

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

Poikasvaihe

Gender

Nainen

Morphology

Pyöreä, kiinnittynyt, epiteelimäinen

Sf9-solut | 604328

Growth properties

Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation Sf9 (Cytionin luettelonumero 604328)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 7108**CellosaurusAccession** CVCL_0549

Biomolekyylitiedot

Virus susceptibility Baculovirukset, Autographa californica (MNPV), St. Louisin enkefaliitti (SLE)

Käsittely

Culture Medium Spodopan (PAN Biotech)**Supplements** Lisätään väliaineeseen tarvittaessa 2 % FBS:ää proliferaation tehostamiseksi**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Solujen irrottaminen solukaapimella on suositeltavaa. Kerää väliaine, jossa on irronneita soluja, kaapimisen jälkeen 15 ml:n sentrifugiputkeen. Lisää pulloon noin 5 ml elatusainetta ja huuhtelee pulloa useita kertoja jäljellä olevien solujen keräämiseksi ja niiden yhdistämiseksi muihin putkessa oleviin soluihin. Sentrifugoidaan 3 minuuttia 300xg:n nopeudella, poistetaan supernatantti, suspendoidaan solut uudelleen tuoreessa, kylmässä mediumissa ja annostellaan uusiin pulloihin.**Seeding density** 1×10^4 solua/cm². Inkuboidaan 26-30 celsiusasteen välillä ilmansäädelyssä inkubaattorissa, jossa ei ole kosteutta. Käytä soluviljelypulloja, joissa on suodatinkorkit, tai löysää korkkeja hapenvaihdon mahdollistamiseksi.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

Sf9-solut | 604328

Freeze medium

Käytä kryosäilytysmediaa täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden saavuttamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryon aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

27°C, 0% CO₂, humidified atmosphere.

Shipping Conditions

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

Sf9-solut | 604328

Storage Conditions

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

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.