

Sf9 šūnas | 604328

Vispārīga informācija

Description

Sf9 šūnas ir klona izolāti, kas iegūti no *Spodoptera frugiperda* Sf21 šūnu līnijas (IPLB-Sf-21-AE). Tās parasti izmanto kukaiņu šūnu kultūrā rekombinantu proteīnu ražošanai, izmantojot baculovīrusu ekspresijas sistēmas. Sf9 šūnu morfoloģija ir epitēlija, un tās tika klonētas no rudens bruņurupuča kukaiņu olnīcu audiem.

Viena no Sf9 šūnu galvenajām īpašībām ir to mazais, regulārais izmērs, kas ir ideāli piemērots monoslānīšu un plāksnīšu veidošanai. Tās ir piemērotas arī transfekcijai, plāksnīšu pārbaudei/attīrīšanai, augsta titra krājumu pavairošanai un rekombinantu proteīnu ekspresijai. Sf9 kukaiņu šūnu līniju var uzturēt piestiprinātās un suspendētās kultūrās, un to audzēšanai nav nepieciešams serums vai CO₂.

Tās tiek uzskatītas par 1. bioloģiskās drošības līmeni, un parasti tās audzē 26-28 grādu pēc Celsija inkubatorā. Sf9 šūnas/baculovīrusu ekspresijas sistēmas plaši izmanto augsta līmeņa proteīnu ekspresijai, bieži vien attīrīšanai, bet proteīnus var arī funkcionāli ekspresēt noteiktā Sf9 šūnu vidē. Inficēto Sf9 šūnu izmērs parasti ir 17-30 mikronu diametrā.

Sf9 šūnu līnija atšķiras no Sf21 šūnu līnijas ar to, ka tā ir klona izolāts ar mazāku un regulārāku izmēru, savukārt Sf21 šūnas ir neviendabīgākā izmērā un veido monoslāņus un plāksnītes, kas ir neregulārākas.

Dažās Sf9 šūnu līnijās var būt negatīva jutīguma rabdovīrusa, ko sauc par *Spodoptera frugiperda* rabdovīrusu (SfRV), pārnēsātājs, lai gan ne visas pārbaudītās Sf9 šūnas ir inficētas ar šo vīrusu. Sf9 genoma lielums ir aplēsts 451 Mbp ar G+C saturu 36,53 %.

Organism

Rudens bruņurupcis

Tissue

Olnīcas

Applications

Transfekcija, plāksnīšu pārbaude/attīrīšana, augsta titra krājumu pavairošana un rekombinantu proteīnu ekspresija

Synonyms

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

Raksturojums

Age

Pupas stadija

Gender

Sievietes

Morphology

Apaļas, piestiprinātas, epitēloīdas

Growth properties

Vienslāņa, adhēzija

Sf9 šūnas | 604328

Normatīvie dati

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

Biomolekulārie dati

Virus susceptibility	Baculovīrusi, Autographa californica (MNPV), Sentluisas encefalīts (SLE)
----------------------	--

Darbs ar

Culture Medium	Spodopan (PAN Biotech)
Supplements	Ja nepieciešams, papildiniet barotni ar 2% FBS, lai veicinātu proliferāciju
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ieteicams atdalīt šūnas, izmantojot šūnu skrāpi. Pēc nokasīšanas savākt barotni ar atdalītajām šūnām 15 ml centrifūgas mēģenē. Kolbā pievieno apmēram 5 ml barotnes un kolbu vairākas reizes izskalo, lai savāktu atlikušās šūnas un apvienotu tās ar pārējām šūnām mēģenē. Centrifugēt 3 minūtes ar 300xg, atdalīt supernatantu, atkārtoti suspendēt šūnas svaigā, aukstā barotnē un iepildīt jaunās kolbās.
Seeding density	1×10^4 šūnas/cm ² . Inkubējiet no 26 līdz 30 grādiem pēc Celsija temperatūrā inkubatorā bez mitrināšanas, ar regulējamu apkārtējo gaisu. Izmantojiet šūnu kultūru kolbas ar filtra vāciņiem vai atlauziet vāciņus, lai nodrošinātu skābekļa apmaiņu.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni izmantojiet pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

Sf9 šūnas | 604328

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**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.

**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.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sf9 šūnas | 604328

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.