

Sf9-celler | 604329

Generell informasjon

Description

Sf9-celler er klonale isolater avledet fra *Spodoptera frugiperda* Sf21-cellelinjen (IPLB-Sf-21-AE). De brukes ofte i insektcellekulturer til produksjon av rekombinante proteiner ved hjelp av baculovirus-ekspressjonssystemer. Sf9-celler har epitel morfologi og ble klonet fra eggstokkvev fra høstvepsen.

Et av de viktigste kjennetegnene ved Sf9-celler er at de er små og regelmessige, noe som gjør dem ideelle for dannelse av monolag og plakk. De egner seg også til transfeksjon, plakkanalyse/opprensing, amplifisering av høytiterstammer og uttrykk av rekombinante proteiner. Sf9-insektcellelinjen kan holdes i festede og suspenderte kulturer, og krever ikke serum eller CO₂ for å vokse.

De regnes som biosikkerhetsnivå 1 og dyrkes vanligvis i en inkubator på 26-28 grader celsius. Sf9-celler/baculovirus-ekspressjonssystemer er mye brukt til proteinuttrykk på høyt nivå, ofte for rensing, men proteiner kan også uttrykkes funksjonelt i det definerte Sf9-cellemiljøet. Størrelsen på infiserte Sf9-celler er vanligvis 17-30 mikrometer i diameter.

Sf9-cellelinjen skiller seg fra Sf21-cellelinjen ved at den er et klonalt isolat med en mindre og mer regelmessig størrelse, mens Sf21-celler er mer uensartede i størrelse og danner monolag og plakk som er mer uregelmessige.

Noen Sf9-cellelinjer kan være bærere av et negativ-sens rhabdovirus kalt *Spodoptera frugiperda* rhabdovirus (SfRV), selv om ikke alle testede Sf9-celler ser ut til å være infisert med dette viruset. Genomstørrelsen til Sf9 er estimert til 451 Mbp med et G+C-innhold på 36,53 %.

Organism Fall armyworm

Tissue Eggstokk

Applications Transfeksjon, plakkanalyse/opprensing, amplifikasjon av høytiterlagre og ekspressjon av 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

Kjennetegn

Age Pupalstadiet

Gender Kvinne

Morphology Rund, festet, epiteloid

Growth properties Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Sf9-celler | 604329

Citation Sf9 (Cytion-katalognummer 604328)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 7108

CellosaurusAccession CVCL_0549

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium Spodopan (PAN Biotech)

Supplements Suppler med 2 % FBS for å øke proliferasjonen om nødvendig

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Det anbefales å løsne cellene med en celleskrape. Samle opp mediet med løsrevne celler etter skraping i et 15 ml sentrifugerør. Tilsett ca. 5 ml medium i kolben, og skyll kolben flere ganger for å samle opp eventuelle gjenværende celler og kombinere dem med resten av cellene i røret. Sentrifuger i 3 minutter ved 300xg, fjern supernatanten, resuspender cellene i nytt, kaldt medium og fordel dem i nye kolber.

Split ratio For de to første subkultiveringene anbefales et forhold på 1:3 til 1:5. I de neste subkultiveringene kan cellene deles i forholdet 1:10 til 1:20

Seeding density 1×10^4 celler/cm². Inkuber mellom 26 og 30 grader Celsius i en ikke-fuktet, luftregulert inkubator. Bruk celledyrkningsflasker med filterlokk eller løsne lokket for å muliggjøre oksygenutveksling.

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium kan du bruke komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

Sf9-celler | 604329

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige 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.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sf9-celler | 604329

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x