

昆虫细胞培养基产品说明书

【产品名称】

昆虫细胞培养基

货号：L115-500

规格：500ml/瓶

【产品介绍】

BDBIO 昆虫无血清培养基是一种无动物源的，可用于草地贪夜蛾（Sf9和Sf21）细胞的悬浮培养，也可用于High Five细胞的高密度悬浮培养。通过培养这类细胞，可利用杆状病毒表达系统大规模生产重组蛋白。

【适用范围】

Sf9、Sf21、High Five等昆虫细胞。

【使用方法】

细胞传代

悬浮细胞传代

1. 预热昆虫无血清培养基， $100\times g$ 离心5-10min收集细胞，重悬后计数。
2. 以 $3-5\times 10^5$ 个活细胞/ml的密度接种于新的培养基。昆虫细胞对机械剪切很敏感，操作时动作需要轻柔。
3. 在 $27^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 的无湿度、空气调节、无二氧化碳的环境中，置于摇床上以120-140rpm的转速培养细胞。
4. 当活细胞密度达到 $>2\times 10^6$ 个活细胞/mL时，进行传代。

注意：悬浮细胞传代过程最好使用上面推荐的步骤，也可以不离心，直接细胞计数然后添加预热的新培养基分瓶培养，但是为了减少细胞代谢物和碎片在培养基中的积累，进而影响细胞活性，每1-2周应该通过离心换液的方式彻底更换一次培养基。如果距复苏或上次传代已满

5天，活细胞密度仍不达标，请彻底更换培养基或复苏新的冻存细胞。

单层细胞传代

1. 当细胞密度达到80~90 %时，可以进行传代。
2. 传代时不需要使用胰酶消化，弃去培养瓶内旧的培养基和游离的细胞。加入新鲜预热的昆虫无血清培养基，反复吹打5-10次，待细胞不贴壁时即可传代。吹打时动作要轻柔。
3. 观察细胞脱落情况，如果有需要，可以用手轻轻拍打瓶壁，帮助细胞解离。

培养基适应/驯化

当细胞存活率 $\geq 90\%$ ，生长速率处于中对数阶段时，活细胞密度达到 $\sim 1 \times 10^6$ 个/ml，可以进行驯化。

驯化成功标准：每4-6天，细胞活率达85%，活细胞密度可达 2×10^6 个/ml，细胞的相对生长速率与驯化前基本一致。

直接适应步骤如下：

1. 将细胞悬液以 $100 \times g$ 离心5min，弃上清。使用新的已经预热的培养基重悬后计数，确定细胞活率和细胞密度。
2. 然后细胞以 $3-5 \times 10^5$ 个/mL的活细胞密度接种于新的培养容器中。
3. 放回培养箱，监测细胞生长情况。如果直接适应3-5代后细胞表现不佳，仍未达到驯化成功标准，请使用顺序适应方法。

顺序适应

1. 在适应过程中，细胞密度 $3-5 \times 10^5$ 个活细胞/mL。
2. 将细胞传代到逐渐增加的新昆虫无血清培养基与原始培养基的比例中(1:3, 1:1, 3:1, 9:1, 然后是100% 昆虫细胞无血清培养基)。在100% 昆虫细胞无血清培养基中传代3-5代后，参考驯化成功标准进行判断。

注意：在驯化过程中，最好不要让细胞过度生长。推荐在驯化成功前，做好原始培养物的保种；顺序适应时，每次适应新的比例前都要做好培养物的保种。

细胞冻存

推荐采用对数生长期且细胞活率大于90%的细胞进行冻存。



百迪科技
B D B I O

1. 准备冻存培养基（45%新鲜的完全培养基+45%条件培养基+10%DMSO），并在2-8℃避光条件下预冷（不超过24h）。
2. 细胞计数，计算细胞密度，细胞活率和活细胞密度，一般推荐的活细胞冻存密度未 $0.5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^7$ 个/ml。
3. 离心（ $100 \times g$, 5~10min）去除细胞上清，加入预冷的冻存液进行重悬。分装到合适的冻存管中。
4. 冻存管上做好标识，包括细胞名称、代次、冻存时间、操作者等信息。建议程序降温，长期冻存建议转移到液氮中，并定期进行细胞复苏检测。

【注意事项】

1. 本产品使用过程中应注意无菌操作，避免污染。
2. 试剂包装如有破损或滴漏，严禁使用。
3. 为保持本产品的最佳使用效果，请勿进行冻融处理；
4. 禁止使用超出规定有效期的产品。

【保存条件】

2℃-8℃避光保存，有效期12个月。

【声明】

仅用于科研使用，不能用于临床诊断和治疗。