

Hi-five 昆虫细胞
Insect cells; Hi-five

一、细胞基本属性

- 1、细胞种属: 粉纹夜蛾
- 2、生长情况: 半贴壁
- 3、培养条件: Grace's Insect Medium+10%FBS+1%双抗
- 3、培养环境: air, 100%; 28°C

二、细胞培养操作

- 1、换液周期: 2-3 天
- 2、培养基体积: T25 瓶 10-12ml; 10cm皿 12-15ml
- 3、传代比例: 1:2-1:4 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)

三、传代方法

1. 轻轻吸走培养上清, 留 2-3ml 培养基轻轻吹打细胞面吹下细胞;
2. 混匀细胞, 收集细胞培养基, 900rpm 离心 3-5min, 弃上清;
3. 加新的完全培养基轻轻重悬细胞, 均匀分到新的培养瓶里;
4. 补足完全培养基, 将培养瓶放回培养箱静置培养;

半贴壁细胞会附着瓶底, 但贴壁不紧, 轻轻吸取培养基轻轻吹打细胞面就会脱落, 不需要胰酶消化。建议使用培养皿培养, 更适合吹打细胞操作, 吹打细胞注意尽量轻柔, 不要产生过多气泡以免影响细胞状态。

四、细胞冻存操作

- 1、冻存液配方: 92%FBS+8%DMSO(新手推荐)或 92%完全培养基+8%DMSO(高手推荐);
- 2、冻存规格: 200-300 万/ml, 1ml 每管

五、冻存方法

1. 离心获得细胞沉淀后, 加配置好的冻存液轻轻重悬细胞;
2. 将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管;
3. 将冻存管转入程序冻存盒, 放入-80 度冰箱过夜, 第二天转入液氮保存; 没有程序冻存盒的实验室, 加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min, 再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜, 第二天转入液氮保存
4. 注意事项: 冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性, 若有异常, 及时调整实验方案

六、收货处理方式

	发货形式	T25 瓶	冻存管
1	快递保存温度	室温	液氮长期保存或-80 度 3 天以内



2	初步平衡	T25 瓶表面消毒后, 放 28 度培养箱平衡 复温 2h 以上	无须平衡, 直接放入-80 冰箱或者液氮罐 保存
3	处理方式	吸走大部分培养基, 留 10-12ml 培养基, 拍照并观察细胞。密度 80%以上即可吸走 培养基消化传代, 若密度低于 80%可以留 10-12 ml 继续培养至细胞密度 80%以上	37 度水浴摇晃尽快融化细胞, 直接在冻存 管内将细胞离心。离心转速以离心力 150g(约 900rpm)左右, 1min 为宜, 弃上 清, 沉淀用新鲜培养基重悬后接种到 10cm 培养皿, 显微镜下观察细胞并拍照, 24h 后换液一次
4	接种方式	T25 传代首次建议 1:2 传代, 即瓶 T25 传 成两瓶	一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶
5	注意事项	若细胞出现漂浮, T25 瓶不开封, 放至 28 度培养箱过夜, 若细胞贴壁即说明活性正常, 按正常操作消化传代即可; 若未贴壁, 收集细胞培养基离心后, 将细胞重悬接种到新的培养瓶中, 同时原瓶还贴壁的细胞加培养基继续培养 发货 T25 瓶装满大约有 75ml 培养基, 可以收集起来, 1500rpm 离心 5min 后, 取上清 4 度保存, 用于培养细胞, 以平稳过渡到客户自己的培养基	收货时若发现干冰化完, 检查冻存管是否融化, 若已融化需直接离心细胞接种观察, 若未融化可以将细胞按正常步骤保存, 以上情况及时反馈 干冰发货的细胞只能在-80 保存 3 天左右, 长时间保存会出现活性下降。干冰发货均为两支, 客户先复苏一支, 若复苏失败及时联系我方并在我方指导下复苏第二支。 若客户同时复苏两支均状态不佳, 我方将不提供免费售后服务

Tips:

1. 细胞半贴壁圆形或多角形生长, 部分悬浮圆形, 传代时均可收集培养, 换液时将悬浮细胞离心收集后重新接回原瓶, 若贴壁细胞较多活性较好时可以不要悬浮的细胞;
2. 该细胞对胰酶比较敏感, 胰酶消化后细胞形态会更多梭形, 贴壁变紧, 传代不建议使用胰酶消化该细胞;
3. 该细胞 28 度培养, 建议 27.5-28 度之间, 超过 28 度细胞状态会受损无法恢复, 低于 27 度细胞生长速度会变慢, 但恢复温度后可以恢复生长。

注意事项:

- 1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并请注意防护, 所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意: 冻存管浸没在液氮中会泄漏, 并会慢慢充满液氮。解冻时, 液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子, 从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

使用范围

本公司产品仅限于科学研究, 绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

网址: www.hfwanwu.com

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层

