

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℃

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。

