思鹏生物 Cellplus Bio

MetaCell® IncreaSect 920

无血清培养基

产品简介

MetaCell® IncreaSect 920是一款昆虫细胞无血清培养基，支持Sf9昆虫细胞高密度悬浮培养，应用于昆虫细胞杆状病毒表达平台。该产品已含有18mM谷氨酰胺。

产品名称	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐使用范围
MetaCell® IncreaSect 920	L3202-1000	1000mL	2-8°C，密闭、避光	12个月	Sf9细胞系

MetaCell® IncreaSect 920适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产，但不可直接用于人体或作为药物使用。

推荐培养条件

培　养　基：MetaCell® IncreaSect 920
细　胞　系：Sf9, Hi5
培 养 类 型：悬 浮
培养参数设置：

摇瓶体积	125mL	250mL	500mL
培养体积（mL）	25-35	60-70	120-140
摇床转速	125 ± 5 rpm （振幅 19mm） 120 ± 5 rpm （振幅 25mm） 95 ± 5 rpm （振幅 50mm）		
摇瓶类型	PETG 或者 PC 材质，透气，无挡板		
培养环境	27 ± 0.5 ℃，0% CO_2，无需额外增加湿度，确保适当的气体交换，尽量避光培养。		

细胞复苏

1. 干冰运输的细胞应立刻复苏或放置在液氮环境下3-7天后再进行细胞复苏。
2. 从液氮罐中取出一支冻存细胞，置于37 ℃水浴锅中，水浴1-2分钟，注意观察冻存管里细胞冰块状态。
3. 以细胞原有特性决定复苏时是否离心：
   (1) 如果细胞需要离心，先取29mL的MetaCell® IncreaSect 920预热30分钟以上，用以备用。取9mL已预热MetaCell® IncreaSect 920至离心管中，加入细胞液，轻轻吹打混匀，200×g离心5分钟，弃上清，使用已预热的MetaCell® IncreaSect 920重悬细胞，然后全部转移至125mL摇瓶中，最终培养体积为20mL（仅为复苏时体积）。混匀后取样测定细胞密度和活率，细胞密度范围应在1.2-1.3×10^6 cells/mL。
   (2) 如果细胞无需离心（例如ExpiSf9™ Cells），轻轻吹打混匀冻存管内的细胞液，全部转移至装有已预热MetaCell®

IncreaSect 920的125mL摇瓶中，最终培养体积为20mL（仅为复苏时体积）。

4. 建议的摇床培养参数为27℃，0% CO_2，95 ±5rpm（振幅50mm）。
5. 培养3-4天，待细胞状态进入对数生长早期，密度5.0-7.0×10^6 cells/mL，活率≥90%时，将Sf9细胞以0.9-1.1×10^6 cells/mL传代培养，推荐至少连续传代三次后进行后续实验。

注：若细胞复苏3代后，细胞生长状态正常，活率≥95%，应尽快安排冻存。

细胞传代

1. 根据细胞计数结果，将Sf9细胞按照0.9-1.1×10^6 cells/mL接种，培养3天传代，细胞至少传代3次后再进行后续实验。
2. 细胞悬浮培养稳定后，应尽快冻存。一般情况下Sf9细胞按照0.9-1.1×10^6cells/mL接种，D3活细胞密度可达到 5.0-7.0×10^6cells/mL，活率≥95%。

细胞冻存

1. 准备好足量的处于对数生长早期且活率≥95%细胞作为冻存用细胞。
2. 最终的细胞冻存密度应控制在：25.0-28.0×10^6 cells/mL。
3. 配制冻存液：90%条件培养基+10% DMSO（亦可使用90% MetaCell® IncreaSect 920+10% DMSO），2-8℃下预冷30分钟备用。
4. 取适量细胞悬液，200×g离心5分钟，弃上清，用冻存液重悬后，按照冻存规格，立即将细胞悬液分装至冻存管中（即，在1.8mL冻存管中分装1mL）。
5. 按照标准程序（每分钟降低1℃），在自动或手动控制速率的冷冻设备中实现冷冻保存。
6. 将冷冻细胞转移至液氮（气相）中储存（储存温度范围：-200℃至-125℃）。

细胞驯化

大多数情况下，无血清培养的昆虫细胞可以直接适应MetaCell® IncreaSect 920，如果有需要，亦可通过逐渐驯化使其适应于MetaCell® IncreaSect 920中生长。

注：用于驯化的Sf9细胞需要处于对数生长期的早期，且活率≥90%。

- **直接驯化法**

1. 对于可以直接驯化的细胞，当细胞活率≥90%且处于对数生长早期时，可尝试直接接种到MetaCell® IncreaSect 920中。
2. 最初培养阶段，Sf9细胞按照初始密度1.0-1.1×10^6 cells/mL接种，培养3-4天后，细胞活率应≥90%，如果活率较低，则需要采用间接驯化法。
3. 传代3-5次，细胞状态及生长正常后，可以开始后续实验。

- **间接驯化法**

1. 将原培养基和MetaCell® IncreaSect 920按75:25比例混合，接种密度为1.0-1.1×10^6 cells/mL。
2. 培养3-4天后，细胞密度达到5.0-7.0 x 10^6 cells/mL传代，
   (1) 如细胞生长状态良好，且活率≥90%，则传代时调整原培养基与MetaCell® IncreaSect 920的比例为50:50。
   (2) 如有细胞生长缓慢、细胞结团严重等不稳定状态，可对细胞进行离心换液，离心条件为200×g离心5分钟。此时的混合培养基依旧为原培养基和MetaCell® IncreaSect 920以75:25比例混合。
3. 重复步骤2并逐渐增加MetaCell® IncreaSect 920所占的比例（推荐比例 50:50， 25:75），直到使用100%的MetaCell®

IncreaSect 920进行细胞培养。

4. 在100%的MetaCell® IncreaSect 920中继续培养2-3代，当细胞密度达到5.0-7.0 x 10^6 cells/mL，且细胞活率≥90%，方可认为驯化完成。连续稳定传代3代以上，方可进行后续实验。

www.cellplusbio.com

地址：江苏省苏州市高新区大同路20号A3幢
电话：0512-67332699
邮箱：Service@cellplusbio.com