

SF21 昆虫卵巢细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CL008
背景描述	该细胞系(全名:IPLB-SF-21-AE)来源于秋季粘虫草地贪夜蛾蛹(鳞翅目夜蛾科草地贪夜蛾种)的未成熟卵巢;细胞易受杆状病毒感染;也可参见 SF-9 (D SMZ ACC 125),它是由 SF-21 衍生而来的。
细胞形态	90%为圆形细胞; 10%梭形, 多数贴壁, 少数细胞悬浮。
规格	>1×10 ⁶ 细胞数量, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	昆虫-秋季粘虫(草地夜蛾)。
培养基	昆虫培养基 (推荐 TNM-FH 培养基; 优质胎牛血清, 10%; 双抗, 1%) 。
培养条件	气相: 空气, 100%; 该细胞培养不能通入 CO ₂ , 如果没有条件准备空气气相 100%的培养箱的, 可以采用不透气密封盖的 T25 培养瓶来培养, 培养过程中每天将细胞拿出培养箱换 1-2 次空气。温度: 28℃, 培养箱湿度为 70%-80%。
消化时间	该细胞不适合用胰酶消化, 建议收集贴壁细胞的时候使用细胞刮刀刮。
传代比例	1:2-1:5; 第一次收到细胞建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。
换液频率	2-3 次/周。
细胞冻存液	无血清非程序细胞冻存液

二、细胞收到后处理方式

该细胞为半贴半悬混合生长的细胞, 活细胞发货的收到时会出现大部分细胞漂浮聚团生长, 瓶中贴壁和悬浮的细胞均为活细胞, 传代时需要分别收集。

- 1、收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。
- 2、请在 4 或 5×显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (10×, 20×) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存, 作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3、悬浮细胞: T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h, 然后抽出瓶中的培养基和细胞 1000rpm 离心 5 分钟, 弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中 (加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基) 。
- 4、贴壁细胞: 细胞在 37℃ 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

5、备注: 运输用的培养基不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。

三、细胞传代

如果细胞密度达 70%-90%, 即可进行传代培养。

SF21 为悬浮和轻微的贴壁细胞, 传代可以参考以下方法:

- 1、收集: 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。由于细胞贴壁不牢 PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收离心管中。
- 2、将培养瓶中悬浮的细胞收集完后, 瓶中的贴壁细胞不适合用胰酶来进行消化, 建议收集瓶内剩余的贴壁细胞的时候使用细胞刮刀刮。
- 3、将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和收集到的贴壁细胞以 1000rpmL 离心 5min, 弃去上清, 补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中, 添加 6-8mL 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

四、细胞冻存

收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例:

- 1、细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/mL。
- 2、1000rpm 离心 3-5min, 去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞, 按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/mL 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。
- 3、将要冻存的细胞置于程序降温盒中, -80 度冰箱中过夜, 之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

五、细胞复苏

- 1、将恒温水浴锅中的水预热到 37℃。
- 2、准备一支 15mL 离心管, 加入 5mL 完全培养基, 放入 37℃ 水浴锅中预热。
- 3、戴上护目镜, 厚毛线手套后, 从液氮罐中取出要复苏的细胞, 尽快转入 37℃ 恒温水浴锅中复温晃动冻存管以提高复温速率。
- 4、将融化了的冻存管中的细胞吸入事先准备的离心管中, 混匀后, 1000rpm 离心 5min。
- 5、准备一个 T-25 培养瓶, 写上细胞名称、日期, 再加入 4mL 完全培养基。
- 6、离心完成后弃去上清, 用 1mL 完全培养基重悬细胞后, 转入 T-25 细胞培养中, 混匀后转入 CO₂ 培养箱中培养静置。

六、运输和保存

- 1、T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后按照细胞接收后的处理方法操作。
- 2、1mL 冻存管包装干冰运输, 收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏。
- 3、若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染, 请立即与我们联系。

七、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。