

HB230113

## CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium (Serum-free)

### 昆虫细胞无血清培养基

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium (Serum-free) 昆虫细胞无血清培养基	40140ES80	1000 mL

#### 产品描述

CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium (Serum-free) 培养基是无血清培养基，无血清无蛋白，不含任何动物源成分。适用于昆虫细胞（Sf9、High Five 等）悬浮驯化及规模化无血清悬浮培养，支持昆虫细胞快速高密度扩增及高效表达蛋白产品。可用于新冠疫苗、VLP 等产品研发和生产过程，支持从研发至规模化生产。

#### 运输与保存方法

冰袋运输。2~8°C，避光保存，有效期 1 年。

#### 使用方法

##### 一、标准参数

参数	设定值
50mL TPP 管	培养体积: 10-20 mL
125~1000mL 摇瓶	培养体积: 摇瓶总体积的 20~30%
摇床转速	TPP: 转速 220Rpm, 摇瓶 110-130 Rpm
摇床振幅	50mm
培养基	CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium (Serum-free)
接种密度	1.0×10 <sup>6</sup> cells/mL
培养温度	27°C
CO <sub>2</sub> %	Atmosphere
相对湿度	80%

##### 二、培养基的适应

通常，在原用培养基中生长的昆虫细胞可直接离心换液为本培养基。特殊情况下，可尝试转移到由 50%原用培养基和 50% CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium 组成的新培养基中进行适应性生长。

1. 细胞传代当天，取 0.5mL 细胞悬液，用细胞计数仪分析活细胞密度（×10<sup>6</sup> 细胞/mL）和细胞活率（%）。将原用培养基中生长的细胞移入新培养基\*（50% CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium + 50%原用培养基），接种密度为 1.0×10<sup>6</sup>/mL，传代后按照规定的环境条件培养细胞。

2. 细胞培养至 48±3 小时后，重复 1.2.1 步骤，建议按此方法进行至少 3 次细胞适应性传代。当细胞活率高于 90%时转入 100% CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium 培养基培养。

### 三、细胞传代和扩增

1. 27°C水浴中预热 CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium 培养基。
2. 使用 75%酒精清洁/消毒生物安全柜。
3. 使用 75%酒精喷洒培养基瓶，并置于生物安全柜。
4. 从培养箱中取出摇瓶（或 TPP 管），喷洒 75%酒精并置于生物安全柜。
5. 接种密度为  $1.0 \times 10^6$  viable cells/mL。培养  $48 \pm 3$  小时后，取 0.5mL 细胞悬液，用细胞计数仪分析活细胞密度（ $\times 10^6$  细胞/mL）和活细胞（%）。
6. 传代前，如果 Sf9 细胞密度低于  $2.5E6$  cells/mL（High five 细胞密度低于  $4.0E6$  cells/mL），或细胞活率低于 90%，需要 170g - 190g（大约 800 rpm-1000 rpm）离心 5 分钟处理细胞。轻轻弃上清，使用 100%新鲜培养基按  $1.0 \times 10^6$ /mL 重悬细胞，并将细胞接种至新摇瓶（或 TPP 管），传代后按照规定的环境条件培养细胞（见第 1.1 节）。
7. 如果传代前 Sf9 细胞密度高于  $2.5E6$  cells/mL（High five 细胞密度高于  $4.0E6$  cells/mL）且活细胞率高于 90%，则将适量细胞悬液转移到新摇瓶（或 TPP 管）中，并用新鲜培养基直接调整最终培养体积进行细胞传代，然后在规定的条件下培养细胞（见第 1.1 节）。

如果传代比（传代后的种子密度：传代前的细胞密度）大于 1:2.5（Sf9）或大于 1:4（High five），细胞需要离心并重新悬浮在 100%新鲜培养基中。

### 四、细胞冻存

1. 细胞冷冻前，将含新鲜异丙醇的程序降温盒、冻存管等所需材料置于 4°C 冰箱中，预冷至少 24 小时后冷冻保存，或在 -20°C 下放置 2 小时~4 小时后冷冻保存。
2. 根据冻存细胞的数量、冻存体积和冻存密度（建议冻存密度为  $25-35 \times 10^6$  /mL/支），计算所需的细胞量，并移入离心管中，以 800rpm-1000rpm（即 170g-190g）离心 5min。
3. 去除剩余上清液，拍打离心管底部使细胞均匀分散，加入细胞冷冻液，轻轻吹打细胞，形成均匀的细胞悬液。
4. 用一次性无菌移液管将 1mL 细胞冻悬液移入预冷冻存管中，置于冰上保存；
5. 离心管中的细胞悬液在分装过程中需要反复混合。分装完成后，将冻存管转移至预冷的程序降温盒中，在 -80°C 冰箱中至少保存 24 小时；
6. 转移至液氮罐中继续保存。

### 五、细胞复苏

1. Day 0 时复苏细胞
2. 使用 75%酒精清洁/消毒生物安全柜。
3. 27°C水浴中预热 CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium 培养基；
4. 使用 75%酒精喷洒培养基瓶，并置于生物安全柜；
5. 从液氮罐中取出冻存管，并置于干冰上；
6. 复苏 1 支细胞，并在 37°C水浴中，轻轻晃动冻存管，解冻约 1-2 分钟；
7. 用 75%酒精喷洒冻存管外壁；

8. 用无菌移液管将冻存管中的细胞轻轻移到含有 10mL 预热培养基 (CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium) 的离心管中。如有必要, 使用预热的培养基 (CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium) 冲洗冻存管中的细胞;
9. 170g-190g (约 800rpm-1000rpm) 离心 5 分钟, 丢弃上清液并将细胞重悬于 10mL 新鲜预热培养基 (CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium) 中。
10. 取 0.5mL 细胞悬液, 用细胞计数仪分析活细胞密度 ( $\times 10^6/\text{mL}$ ) 和细胞活率 (%)。
11. 然后使用预热培养基 (CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium) 将细胞密度调节至  $1.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ , 转移至摇瓶 (或 TPP) 中并将细胞置于规定的环境条件下培养细胞 (见第 1.1 节)。
12.  $48 \pm 3$  小时后, 传代、扩大培养细胞。

注: 如果细胞活率  $< 85\%$ , 需要 170g-190g (大约 800rpm~1000rpm) 离心 5 分钟处理细胞。弃上清, 使用 100%新鲜培养基按  $1.0 \times 10^6/\text{mL}$  重悬细胞, 置于规定的环境条件下培养细胞。

## 6、悬浮昆虫细胞表达蛋白

1. 细胞在 CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium 中培养, 稳定传代 3 代后可进行病毒感染;
2. 按  $1.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$  接种,  $72 \pm 3$  小时后, 取 0.5mL 细胞悬液, 用细胞计数仪分析活细胞密度 ( $\times 10^6/\text{mL}$ ) 和细胞活率 (%);
3. 用相同体积的预热 CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium 培养基稀释培养物 (培养物体积: 待添加的 CelCulSF™ Insect Cell Culture Medium 培养基体积=1:1);
4. 根据病毒培养工艺, 接种病毒, 并继续培养病毒至收获。

## 注意事项

1. 细胞应及时传代。如果细胞密度很高, 会导致细胞状态下降, 死亡细胞增多, 细胞碎片增多, 细胞聚集;
2. 液体细胞培养基不宜长时间光照或热照, 应避光保存在  $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 。