Version 1，2025

使用说明书—Insect SFM01

基础信息介绍

产品简介

Insect SFM01 是无血清培养基（Serum-Free Media）基础培养基，不含蛋白、蛋白水解物及任何动物来源的成分，专门为 Insect 细胞系开发，与 Insect TE01 添加剂联用，可用于 Insect 细胞悬浮高密度培养及杆状病毒转染表达，支持细胞高密度生长及活率维持，可用于相关产品的研发和生产过程。



应用范围

Insect SFM01 与 Insect TE01 添加剂联用，可应用于 Insect 细胞的复苏、传代、悬浮高密度流加培养以及杆状病毒转染表达。该基础培养基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。

储运及有效期

产品	货号	储存	运输	有效期
Insect SFM01	LQ11，液体	2℃～8℃，避光	2℃～8℃，避光	12 个月
Insect SFM01	DP11，干粉	2℃～8℃，避光	室温，避光	36 个月

干粉培养基配液方法

1. 向配液容器中加入最终体积 100%的纯化水(20～30 ℃)。
2. 缓慢加入 41.60 g/L 培养基干粉，搅拌混合 20～30 分钟。
3. 缓慢加入 0.35 g/L 的碳酸氢钠和 1mL/L 的 TE01（使用无水乙醇溶解充分后），搅拌混合 10～15 分钟。
4. 用 10M NaOH 调节 pH 至 6.0～6.2（每升培养基约需加 2mL）。
5. 立即使用 0.22 微米的滤膜无菌过滤。

干粉及液体培养基质量指标

产品指标	Insect SFM01（LQ11），液体	Insect SFM01（DP11），干粉
外观	黄色澄清液体	淡黄色或相近颜色粉末
pH	6.0～6.4	6.0～6.2（滤前）
渗透压（mOsmol/kg）	370～420	370～420
溶解性	--	按配液方法操作，溶解良好
内毒素（EU/mL）	＜3	＜10
无菌检测	阴性	--
微生物限度	--	需氧菌：＜200CFU/g 霉菌酵母菌：＜200CFU/g

细胞培养参考标准作业流程

细胞培养条件

参数		值
培养体积	50 mL TPP 管	10～30 mL
	125 mL 摇瓶	15～40 mL
	250 mL 摇瓶	40～80 mL
	500 mL 摇瓶	100～200 mL
	1000 mL 摇瓶	200～300 mL
摇床转速	TPP 管	50mm 振幅：220 rpm
	摇瓶	25mm 振幅：150 rpm
	摇瓶	50mm 振幅：90～120 rpm
培养环境	接种密度	1.0×10^6 cells/mL
	培养温度	27℃
	CO_2 浓度	空气含量
	湿度	＞80% RH

细胞复苏

1. 27℃水浴中预热 Insect SFM01 培养基；

2. 使用 75%酒精喷洒培养基瓶，并置于生物安全柜；

3. 复苏 1 支细胞，并在 37℃水浴中，轻轻晃动冻存管，解冻 1 分钟；

4. 将冻存管中的细胞轻轻移到含有 10mL 已预热 Insect SFM01 培养基的离心管中；

5. 150g～300g（约 800rpm～1200rpm）离心 5 分钟，丢弃上清液并将细胞重悬于 10～30mL 新鲜预热的 Insect SFM01 培养基中，调节活细胞密度至 1.0×10^6 cells/mL；

6. 取 0.5mL 细胞悬液，用细胞计数仪分析活细胞密度（$\times10^6$ cells/mL）和细胞活率（%）。

7. 如果细胞活率 ＞85%，将细胞置于规定的环境条件下进行细胞培养。

细胞传代

1. 将 Insect SFM01 培养基放入 27℃条件下预热 20～30 min；

2. 取活细胞密度 ≥2.5×10^6cells/mL、细胞活率 ≥90%、处于对数生长期中期的细胞进行传代；

3. 根据 1.0×10^6 cells/mL 的接种密度和传代体积，计算所需种子液量；

4. 无菌转移所需量的种子液，添加至含所需体积的已预热 Insect SFM01 培养基的摇瓶中；

5. 将摇瓶置于规定的环境条件下进行细胞培养；

6. 每 48 ± 3 小时用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。

7. 传代前，如果活细胞密度低于 2.5×10^6 cells/mL，或细胞活率低于 90%，需要 150g～300g（大约 800rpm～1200rpm）离心 5 分钟处理细胞。轻轻弃上清，使用已预热的 Insect SFM01 培养基重悬细胞，取样计数后进行细胞传代。

细胞适应

直接适应

1. 对于可以直接适应的细胞，可以从无血清培养基中直接接种到 Insect SFM01 培养基中，接种密度参考传代步骤，并需要依据具体情况而定。

2. 继续传代细胞，直到细胞稳定生长。

3. 传代几次后，活细胞密度在接种的 48 ± 3 小时内达到 2.5×10^6cells/mL 及以上、细胞活率 ＞ 90%，且倍增时间稳定，此时可以认为细胞已被驯化成功。

连续适应

1. 对于传统的生长在 5～10%血清或无血清的细胞，采用连续适应法，接种密度 1.0×10^6 cells/mL。
2. 监测细胞生长情况，直到活细胞密度达到 ≥2.5×10^6 cells/mL。
3. 用 Insect SFM01 培养基：原始培养基 =25 : 75 的比例稀释细胞。直到这个比例的培养基细胞生长良好，再进一步稀释培养，按 25 : 75，50 : 50，75 : 25，90 : 10，100 : 0。逐步提高 Insect SFM01 培养基的比例。
4. 在完全使用 Insect SFM01 培养基接种 48 ± 3 小时之后，活细胞计数应该至少达到 2.5×10^6 cells/mL，细胞活率 ≥90%。此时，细胞已经完全适应 Insect SFM01 培养基。

细胞冻存

1. 准备处于对数生长中期的、细胞活率 ＞90%、状态较好的细胞。
2. 测定活细胞密度，计算所需的冻存培养基体积，最终活细胞密度 ＞1×10^7 cells/mL。
3. 准备所需的冻存培养基：90% Insect SFM01 培养基 + 10%DMSO，4℃冷藏保存。
4. 300g 离心 5 分钟，弃去上清，用冻存培养基重新悬浮细胞。
5. 根据项目具体需要，将悬浮液进行等分保存于适宜规格的冻存管中。
6. 按照标准程序，对冻存管进行自动或手工操作降温（每分钟降 1℃）。
7. 将细胞转移到液氮罐中保存。

【技术支持】

根据销售条款，如您遇任何问题，请与我公司技术人员联系 ：

Tel：+86 21-64909996-393 Fax： +86 21-64909996-730

Email：bioreagent@tofflon.com