

ACE Insect SFM 产品手册 (1.0.0 版)



【产品名称】: ACE Insect SFM

【产品货号】: ACE09101

【包装规格】: 1000ml

【主要成分】: 该产品为无血清培养基, 化学成分明确。本产品通过科学配比氨基酸、维生素、脂类及能量物质, 结合独特的细胞保护剂, 显著提升细胞活力与蛋白产量。

【适用范围】: 仅限于科研使用, 不适于临床诊断和治疗。

【预期用途】: 是一款专为 SF9、SF21 高密度培养及重组蛋白表达优化的无血清培养基。适用于杆状病毒表达系统 (Bac-to-Bac) 的规模化生产与科研实验。

【运输要求】: 湿冰运输

【存储条件及有效期】: 2~8℃避光保存, 有效期 9 个月

【使用方法】

温馨提醒:

- (1) 产品切勿紫外照射;
- (2) 使用前无需预热处理;
- (3) 储存培养基请使用医用冰箱, 切勿冷冻。

1. 培养液使用前的准备

- (1) 本培养液适合 Sf9 及 Sf21 细胞高密度无血清悬浮培养, 使用时无需添加任何添加物, 开封即可使用;
- (2) 常规的换液或传代时, 从 4℃冰箱取出的培养液可预热至室温时使用。

2. 培养条件设置

- (1) 使用恒温摇床悬浮震荡培养细胞, 摇床温度应调至 27-28℃, 无需提供 CO₂ 气体, 摇床转速为 100-120rpm 左右; 使用普通恒温培养箱及磁搅拌方式悬浮培养细胞时, 搅拌速度约控制在 80-100rpm 左右;

【技术支持】: 根据销售条款, 如您遇到任何问题, 请与我司技术支持人员联系 Tel:0756-3631186

3. 细胞的换液与传代

(1) 将细胞以 1.0×10^6 cells/ml 接种至合适的摇瓶中（培养液体积一般控制在摇瓶容积规格的 1/5 以内），盖上封口膜，置于上述条件下的恒温培养箱中培养；待细胞密度至 3×10^6 cells/ml 左右时，可进行传代或冻存；

(2) 传代时，需先做细胞计数，密度确认后无需对细胞悬液进行离心，可直接将细胞悬液依照所需比例兑入培养液中。传代后的细胞密度应尽量控制在 1.0×10^6 cells/ml，或根据自身经验摸索最佳传代条件。

4. 细胞的冻存与复苏

4.1 冻存

(1) 用细胞培养液制备 7.5% 二甲基亚砜 (DMSO) 细胞冻存液，或使用珠海恺瑞即用型无血清细胞冻存液 KD-Freeze（货号 K60001）；

(2) 将细胞培养至对数生长期，计数并离心收集细胞；

(3) 用细胞冻存液将离心的细胞以 $5-10 \times 10^6$ cells/ml 的浓度重悬；

(4) 将细胞悬液分装到标记好的冻存管内，确保拧紧管盖使其完全密封；

(5) 将冻存管放置于 -80°C 冰箱中缓慢降温；

(6) 次日将冻存管转移至液氮内长期保存。此过程需尽可能快速完成（建议在 2min 内），如果在此过程中冻存管温度升至 -50°C 以上，细胞则可能会迅速受损。

4.2 复苏

(1) 从液氮罐、干冰或超低温冰箱中取出细胞冻存管，立刻放置于 37°C 的温水中，直至管内冰晶完全融化；

(2) 解冻后用 75%乙醇彻底擦拭冻存管，用移液枪将管内细胞悬液全部转移至一个 50ml 的无菌离心管中，缓慢加入细胞培养液，至其终体积为 20ml；

(3) 1000rpm 离心 5min，弃去含有冻存液的上清液；如使用珠海恺瑞无血清细胞冻存液，可直接将复苏后的细胞转移至已添加 ACE Insect SFM 培养液的摇瓶中重悬即可。

(4) 用新鲜的 ACE Insect SFM 培养液重悬细胞，使其密度为 $0.6-1.0 \times 10^6$ cells/ml，接种于摇瓶中震荡培养；培养 3-6 天后对细胞进行计数，观察细胞密度

【技术支持】：根据销售条款，如您遇到任何问题，请与我司技术支持人员联系 Tel:0756-3631186

和存活率是否上升；若细胞密度达到 $3-6 \times 10^6$ cells/ml，可对细胞进行传代，一般细胞传代 1-2 次后即可恢复正常的生长状态；

(5) 若化冻后细胞密度过低，可先接种于培养瓶中静置培养，待其密度恢复至 $0.6-1.0 \times 10^6$ cells/ml 时，再接种于摇瓶中震荡培养。

操作要点及注意事项：

1. 培养箱摇床参数设置建议：温度 $27-28^{\circ}\text{C}$ ，转速 $\leq 120\text{rpm}$ （振幅 26）；不同振幅摇床计算公式如下：

如振幅是 50，按照公式计算： $m \times \omega_1^2 \times \frac{26}{2} = m \times \omega_2^2 \times \frac{50}{2}$ ，所以 ω_1 和 ω_2 的关系是： $\omega_1 \approx 1.4\omega_2$ ，就是 86rpm 左右。

2. 如使用其它品牌培养基，建议逐步过渡到 ACE Insect SFM，让细胞持续传代数周时间，观察细胞活率及扩增速度，等细胞恢复正常生长状态后，再做下一步实验。

3. 细胞密度及活率降低

(1) 当细胞存活率为 80%-95% 时：

将细胞离心去上清，用新鲜培养液重悬，使其密度为 3×10^6 cells/ml，接种于摇瓶中振荡培养。每天观察细胞是否增殖，若有增殖，继续培养，直至细胞密度为 9×10^6 cells/ml 时方可传代。传代密度继续使用 3×10^6 cells/ml，直至细胞存活率恢复至 95% 以上时，可将传代密度恢复至 $0.3-0.6 \times 10^6$ cells/ml。

(2) 当细胞存活率为 60%-80% 时：

将细胞离心去上清，用新鲜 ACE Insect SFM 重悬，使其密度为 0.5×10^6 cells/ml，接种于培养瓶中静置培养。每两天观察一次细胞是否生长，若细胞有生长，继续培养至细胞密度为 2.0×10^6 cells/ml，传代至 0.5×10^6 cells/ml 于培养瓶中静置培养。重复上述过程，直至细胞活率大于 90% 时，可转移至摇瓶中培养，此时接种密度应不低于 2.0×10^6 cells/ml。在静置培养过程中若发现有细胞贴壁，可继续培养。当细胞密度达到一定程度时，部分细胞会自然脱落，继续贴壁的细胞则可以借助移液管的轻微吹打脱离培养瓶。

(3) 细胞存活率小于 60% 时：

丢弃细胞，重新获取细胞。

4. 细胞结团：

检查是否在培养液中添加了其它物质，若使用可重复使用的玻璃摇瓶，需检查瓶子是否清洗干净。如果结团细胞成球状，可能是因为添加了其它外源物质或洗涤剂；如果结团细胞成片状或不规则的松散结构，可能是因为摇瓶有上一次培养时没洗干净的残留物粘附于瓶身，或因细胞成活率较低所致。

【技术支持】：根据销售条款，如您遇到任何问题，请与我司技术支持人员联系 Tel:0756-3631186

5. 常见问题及应对方法

问题	是	否
摇床温度是否为 27-28°C		用温度计检测摇床内温度并做必要的校正
摇床转速是否为合适		调节摇床至合适转速
CO ₂ 浓度是否为 0		调节摇床 CO ₂ 的浓度至 0
摇瓶是否干净无异物		更换新摇瓶
细胞接种密度是否大于 1.0×10 ⁶ cells/ml		离心并重悬细胞，使其密度大于 1.0×10 ⁶ cells/ml
传代是否过频	密度达到 3-6×10 ⁶ cells/ml 时传代	

【技术支持】: 根据销售条款, 如您遇到任何问题, 请与我司技术支持人员联系 Tel:0756-3631186