

使用说明书—Tobitec FB

基础信息介绍

产品简介

Tobitec FB 是化学成分限定 (Chemically-defined) 补料培养基, 含有氨基酸, 维生素, 葡萄糖、无机盐和微量元素, 不含蛋白、蛋白水解物、生长因子及任何动物来源成分等。Tobitec FB 是为提高 CHO 细胞生长和产品生产性能专门设计的一种高效补料配方, 可以满足细胞高密度培养和产物高表达时的营养需求。Tobitec FB 与 Tobitec FA 联合使用可实现细胞高密度稳定培养及重组蛋白/抗体等的高水平表达。



应用范围

Tobitec FB 可应用于 CHO 的流加培养, 有效提高细胞密度及产物表达量。该补料培养基适用于蛋白/抗体相关产品的研发和生产过程, 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
Tobitec FB	LQF01-B, 液体	2°C ~ 8°C, 避光	2°C ~ 8°C, 避光	6 个月
Tobitec FB	DPF01-B, 干粉	2°C ~ 8°C, 避光	2°C ~ 8°C, 避光	24 个月

干粉培养基配液方法

1. 向配液容器中加入最终体积 70% 的纯化水 (20 ~ 30 °C)。
2. 缓慢加入 94.50 g/L 的干粉培养基, 搅拌混合 10 ~ 30 分钟。
3. 缓慢加入 5M 的氢氧化钠溶液, 将 pH 调至 10.40 ~ 11.40, 充分搅拌 10 ~ 60 分钟。
4. 用纯水定容至最终体积, 继续搅拌 5 ~ 10 分钟。
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	Tobitec FB (LQF01-B), 液体	Tobitec FB (DPF01-B), 干粉
外观	淡黄色澄清液体	类白色粉末
pH	11.0 ~ 11.6	10.4 ~ 11.4 (滤前)
渗透压 (mOsmol/kg)	180 ~ 280 (5 倍稀释)	220 ~ 300 (5 倍稀释)
溶解性	--	按配液方法操作, 溶解良好
无菌检测	阴性	--
微生物限度	--	需氧菌 < 200 CFU/g 霉菌酵母菌 < 50 CFU/g

参考补料策略

CHO 流加培养补料策略

Tobitec FB 应用于 CHO 稳转表达

1. 将驯化好的细胞按照 0.5×10^6 cells/mL 接种至 CHO 基础培养基中。
2. D3 天开始, 参考以下补料策略进行补料:

补料/时间	D3	D5	D7	D9	D11	D13
Tobitec FA / FB	2/0.2%	2/0.2%	2/0.2%	2/0.2%	2/0.2%	2/0.2%
Tobitec FA / FB	3/0.3%	3/0.3%	3/0.3%	3/0.3%	3/0.3%	3/0.3%
Tobitec FA / FB	4/0.4%	4/0.4%	4/0.4%	4/0.4%	4/0.4%	4/0.4%
葡萄糖	当葡萄糖浓度 < 4 g/L 时, 按 6 g/L 的终浓度添加葡萄糖					

注:

建议首次补料细胞密度在 $4 \sim 6 \times 10^6$ cells/mL, 可根据细胞生长情况提前或延迟补料。

流加培养过程中为实现细胞高密度、高活率维持, 建议当细胞密度 $> 15 \times 10^6$ cells/mL 时, 降低培养温度。

Tobitec FB 应用于 CHO 瞬转表达

CHO 瞬转操作后, 置于规定的环境条件下进行细胞培养, 参考以下补料策略进行补料:

补料/时间	D1	D4	D7
Tobitec FA / FB	2/0.2%	2/0.2%	2/0.2%
Tobitec FA / FB	3/0.3%	3/0.3%	3/0.3%

Tobitec FA / FB	4/0.4%	4/0.4%	4/0.4%
葡萄糖	当葡萄糖浓度 < 4 g/L 时, 按 6 g/L 的终浓度添加葡萄糖		
谷氨酰胺	转染后控制谷氨酰胺 2 ~ 6mmol/L 或在补料时按培养体积添加 4mmol/L 谷氨酰胺		