

使用说明书—Tobitec FedVigor02

基础信息介绍

产品简介

Tobitec FedVigor02 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 FedVigor02 是为提高 CHO 及 HEK293 细胞生长和瞬时转染表达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。



应用范围

Tobitec FedVigor02 可应用于 CHO 及 HEK293 的瞬时转染表达，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/抗体及病毒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 FedVigor02	LQ47, 液体	2℃～8℃，避光	2℃～8℃，避光	6 个月
Tobitec FedVigor02	DP47, 干粉	2℃～8℃，避光	2℃～8℃，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℃)。
2. 缓慢加入 209.14 g/L 的干粉培养基，搅拌混合 30 分钟。
3. 缓慢加入 5M 的氢氧化钠溶液，将 pH 调至 6.8～7.2，充分搅拌 30 分钟以上。
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 FedVigor02（LQ47）液体	Tobitec FedVigor02（DP47）干粉
外观	红色澄清液体	类白色粉末
pH	6.6 ~ 7.4	6.6 ~ 7.4（滤前）
渗透压（mOsmol/kg）	240 ~ 340（5 倍稀释）	240 ~ 340（5 倍稀释）
溶解性	--	按配液方法操作，溶解良好
内毒素（EU/mL）	< 10	< 10
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

Tobitec FedVigor02 应用于 CHO 瞬转表达

- 已经完成适应性培养的 CHO 细胞，再经过 3 次传代培养后可进行转染操作。转染前准备新鲜培养基，如细胞株不是 Expi CHO，需添加终浓度为 4mg/L EDTA；
- 150g ~ 300g（大约 800rpm ~ 1200rpm）离心 5 分钟处理待转染细胞，并使用新鲜培养基进行重悬；
- 取样检测活细胞密度及细胞活率，根据计数结果添加新鲜培养基，将活细胞密度稀释至 $4 \sim 6 \times 10^6$ cells/mL；
- 执行转染作业，最佳转染条件应根据具体情况进行优化，以下转染条件仅供参考使用；

VCD	DNA	PEI
$4 \sim 6 \times 10^6$ cells/mL，活率> 95%	1.5mg/L	7.5mg/L

- 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 FedVigor02	5 ~ 8%	5 ~ 8%	5 ~ 8%
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		

Tobitec FedVigor02 应用于 HEK293 瞬转表达

- 已经完成适应性培养的 HEK293 细胞，再经过 3 次传代培养后可进行转染操作（转染前准备新鲜培养基）。

2. 将 HEK293 细胞按照 0.5×10^6 cells/mL 的活细胞密度接种到新鲜培养基中。
3. 细胞培养 2~3 天后，活细胞密度可达到 $2 \sim 4 \times 10^6$ cells/mL，用相同体积的新鲜培养基稀释培养物（体积比 = 1:1），继续培养细胞，每天取样检测活细胞密度（ $\times 10^6$ cells/mL）和细胞活率（%）。
4. 执行转染作业，最佳转染条件应根据具体情况进行优化，以下转染条件仅供参考使用：

VCD	DNA	PEI
4.5×10^6 cells/mL，活率 > 95%	1.5mg/L	4.5mg/L

5. HEK293 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	D0	D1	D3
Tobitec FedVigor02	--	5 ~ 8%	5 ~ 8%
谷氨酰胺	--	4mmol/L	4mmol/L
葡萄糖	当葡萄糖 ≤3 g/L 时，按 5 g/L 的终浓度添加葡萄糖		
参数建议：转染后初始培养温度 36.5℃，不降温，pH：7.1±0.2，DO：40%。			

【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