

杂交瘤快速筛选半固体培养基

Semi-solid Medium for Rapid Hybridoma Screening

本产品需 4℃运输；4℃保存,保质期 12 个月,严禁冷冻。

货号规格

货号	规格
RZ202	100 mL

产品简介

本产品是预混即用型培养基,经甲基纤维素改良,适用于杂交瘤细胞的半固体筛选培养。在半固体培养过程中,单个细胞被固定于具有一定黏度的培养基中,增殖形成彼此独立的单克隆集落。挑取这些离散集落,即可获得多样化的单克隆细胞株。

在杂交瘤筛选中,使用本产品可提高单克隆得率,简化筛选流程,缩短筛选周期,同时减少培养基和培养板的消耗,替代传统有限稀释法的繁琐操作。

本产品含有甲基纤维素、血清、HAT(次黄嘌呤-氨基蝶呤-胸苷)筛选体系、青链霉素双抗、酚红指示剂及杂交瘤增殖所需其它关键添加剂。

产品特点

- 高效克隆** — 单个细胞原位成团,快速获得大量单克隆株,降低多克隆混杂风险,提高单克隆得率;
- 兼容性强** — 适配不同生长速率的单克隆株,降低生长较慢的阳性克隆株的丢失率,提升优质候选株的发现概率;
- 省时省力** — 替代传统有限稀释法,精简筛选流程,大幅缩短实验周期。

注意事项

1. 本产品使用前须充分混匀;
2. 实验全程须严格无菌操作;
3. 铺板操作须轻柔,尽量避免产生气泡;
4. 孵育期间保持高湿环境,防止培养基蒸发;
5. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作;
6. 本产品仅限科研使用。

操作步骤

1. 制备杂交瘤细胞(具体步骤此处从略)

注意: ① 杂交瘤细胞融合前至少 1 周复苏传代骨髓瘤细胞 SP2/O, 确保无支原体污染, 融合当天处于对数生长期;
② SP2/O 与 B 淋巴细胞融合后的细胞较为脆弱, 须先将融合细胞置于含细胞因子及 HAT 的液体培养基中 37°C、5% CO₂培养箱孵育 2~4 h, 促进其恢复。

2. 半固体克隆和筛选(以 6 孔板为例)

杂交瘤快速筛选半固体培养基使用前须充分混匀。

用于融合后初次筛选

根据融合时 SP2/O 细胞用量计算细胞密度, 按表一用量将杂交瘤快速筛选半固体培养基和杂交瘤细胞加入 6 孔板的同一个孔中, 轻柔混匀, 置于 37°C、5% CO₂培养箱中静置培养 5 天。

表一

试剂/细胞	用量
杂交瘤快速筛选半固体培养基	3 mL/孔
杂交瘤细胞	1×10 ⁶ 个/孔

用于亚克隆筛选

按表二用量将杂交瘤快速筛选半固体培养基和杂交瘤细胞加入 6 孔板的同一个孔中, 轻柔混匀, 置于 37°C、5% CO₂培养箱中静置培养 5 天。

表二

试剂/细胞	用量
杂交瘤快速筛选半固体培养基	3 mL/孔
杂交瘤细胞	500个/孔

注意: ① 若需接种多孔(共 n 孔), 建议按 n+1 孔计算培养基总量, 每孔分装 3 mL 至 6 孔板, 最后加入杂交瘤细胞轻柔混匀;
② 取放细胞培养板时须动作轻缓, 保持水平, 避免细胞在半固体培养基中发生位移。

3. 克隆挑取与筛选

- (1) 观察细胞团的增殖状态及大致数量;
- (2) 准备 96 孔板, 每孔加入 200 μ L 液体培养基;
- (3) 用 10 μ L 微量移液器吸取细胞团, 转移至 96 孔板中, 置于 37°C、5% CO₂培养箱中静置培养 5~10 天;
注意: 不同大小的克隆株均需挑选, 生长较慢、形态偏小的克隆同样可能具备优异的抗体分泌能力, 而在传统多克隆混杂的增殖环境中, 这类竞争性弱势克隆极易被优势克隆压制而丢失, 造成优质候选株的漏检。
- (4) 待细胞覆盖孔底 30% 以上, 即可用适当方法(如 ELISA、流式细胞术或 Western blot)筛选阳性克隆。