

# FluorScreen™杂交瘤快速荧光筛选半固体培养基

FluorScreen™ Hybridoma Rapid Fluorescence Screening Semi-Solid Medium

本产品需 4℃运输；4℃保存, 保质期 12 个月, 严禁冷冻。

## 货号规格

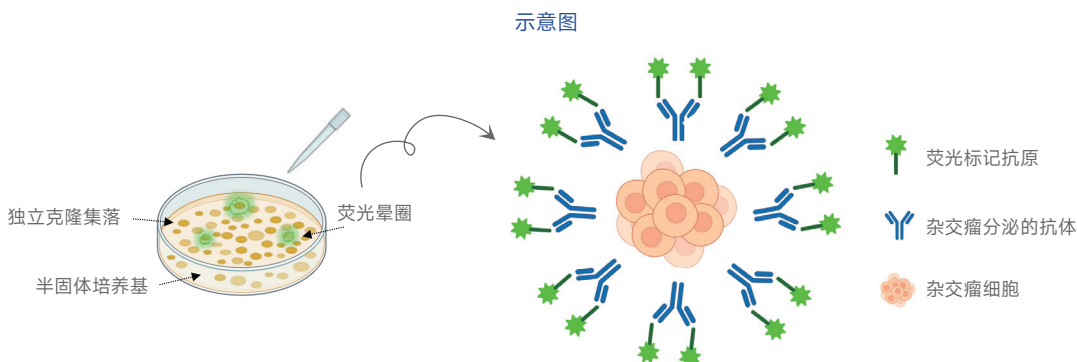
| 货号    | 规格     |
|-------|--------|
| RZ201 | 100 mL |

## 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。在荧光显微镜下, 分泌阳性抗体的杂交瘤细胞周围形成明显荧光光点, 阴性细胞则无此特征。结合荧光体视镜使用, 可高效筛选目的单克隆, 显著节省时间与成本。

杂交瘤快速荧光筛选半固体培养基已预先添加杂交瘤增殖所需核心营养成分, 可保障细胞在半固体体系内快速、稳定生长。将杂交瘤细胞以低密度接种于本培养基中, 使单细胞充分分散; 同时加入荧光标记抗原(自备)共培养。培养 3-5 天后, 单个细胞即可增殖形成独立杂交瘤克隆团。分泌特异性目标抗体的阳性克隆周围会产生明亮特异性荧光信号, 阴性克隆则无荧光显现; 荧光强度还可直观反映抗体分泌水平, 助力快速筛选获得高表达、高分泌能力的优质杂交瘤细胞株。

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

- 省时省力** — 筛选与克隆一步完成, 周期短成本低;
- 保真表位** — 液相半固态环境抗原抗体结合, 表位构象更天然, 优于传统ELISA固相筛选;
- 可视追踪** — 荧光信号直观定位阳性克隆, 强度指示分泌水平, 避免阳性克隆丢失。

## 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. 准备荧光标记抗原和制备杂交瘤细胞(具体步骤此处从略)

- 注意: ① 荧光标记抗原需用户自备,常用 488、FITC 等荧光染料标记;或在重组抗原制备时,将 GFP 等荧光蛋白与目的基因融合表达;
- ② 杂交瘤细胞融合前至少 1 周复苏传代骨髓瘤细胞 SP2/0,确保无支原体污染,融合当天处于对数生长期;
- ③ SP2/0 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% CO<sub>2</sub>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)

杂交瘤快速荧光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 SP2/0 细胞用量计算细胞密度,按表一用量将杂交瘤快速荧光筛选半固体培养基、杂交瘤细胞和荧光抗原加入 6 孔板的同一个孔中,轻柔混匀,置于 37°C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养 5 天。

表一

| 试剂/细胞           | 用量                                       |
|-----------------|--|
| 杂交瘤快速荧光筛选半固体培养基 | 3 mL/孔                                   |
| 杂交瘤细胞           | 1×10 <sup>6</sup> ~2×10 <sup>6</sup> 个/孔 |
| 荧光抗原            | 终浓度50~100 nM                             |

#### 用于亚克隆筛选

按表二用量将杂交瘤快速荧光筛选半固体培养基、杂交瘤细胞和荧光抗原加入 6 孔板的同一个孔中,轻柔混匀,置于 37°C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养 5 天。

表二

| 试剂/细胞           | 用量           |
|-----------------|--------------|
| 杂交瘤快速荧光筛选半固体培养基 | 3 mL/孔       |
| 杂交瘤细胞           | 500个/孔       |
| 荧光抗原            | 终浓度50~100 nM |

- 注意: ① 若需接种多孔(共 n 孔),建议按 n+1 孔计算试剂总量。在合适的器皿中(如 50 mL 离心管),将荧光抗原加入杂交瘤快速荧光筛选半固体培养基,至终浓度 50~100 nM,涡旋混匀,瞬时离心 10 sec 除气泡,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,避免细胞及荧光信号在半固体培养基中发生位移。

### 3. 克隆挑取与筛选(需配备荧光体视镜)

- (1) 荧光显微镜下观察阳性克隆(有荧光)的增殖状态及大致数量;
- (2) 准备 96 孔板,每孔加入 200 μL 液体培养基;
- (3) 在荧光体视镜下,用 10 μL 微量移液器吸取荧光信号阳性的细胞团(周围可见明亮荧光),转移至 96 孔板中,置于 37°C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养 2~5 天;
- (4) 待细胞覆盖孔底 30% 以上,进行后续操作: ① ELISA 检测; ② 重复亚克隆; ③ 扩大培养(按 96 孔板 → 24 孔板 → 12 孔板 → 6 孔板 → 6 cm 平皿 → 10 cm 平皿 → 摇瓶顺序逐级扩大)。