单克隆杂交瘤细胞筛选（1.5版）

单克隆抗体是由抗原致敏的B淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合形成杂交瘤细胞，经克隆化培养后由一个细胞[克隆](http://www.bbioo.com/Search.asp?ModuleName=Article&Field=Title&Keyword=克隆)所分泌的只识别单一抗原决定簇的抗体。珠海恺瑞生物科技有限公司研发生产了适用于单克隆抗体开发的系列无血清培养液**KD-Advance、KD-Hybri**及**KD-Clone**，可用于骨髓瘤的无血清培养及整个杂交瘤细胞制备全过程。

**细胞培养基使用保存注意事项：**

1. **切勿紫外照射；**
2. **无需预热处理，可直接从冰箱取出使用；**
3. **储存细胞培养基时尽量使用医用冰箱，以确保恒温效果，切勿冷冻；**
4. **定期检查细胞培养基过期日期，并在过期前使用完或更换新的培养基，避免使用过期培养基导致细胞生长异常或失败。**

# 前期准备

1. 抗原表达及小鼠免疫。
2. 骨髓瘤细胞的准备，珠海恺瑞使用本公司驯化的无血清摇瓶震荡培养的SP2/0骨髓瘤细胞进行细胞融合。细胞培养于含ITSplus的 **KD-Hybri**培养液中可快速获得大量细胞，且操作简便。

# 细胞的融合及筛选

珠海恺瑞目前采用PEG化学融合法，杂交瘤的融合及前期筛选均采用**KD-Advance** 培养液。

1. 制备免疫脾细胞；
2. 取完成免疫周期的小鼠脾脏，用KD-Advance 培养液清洗后获取脾细胞。将获取的脾细胞用KD-Advance培养液重悬，1500rpm，10min/次，离心洗涤2次。细胞计数后取1×108-1×109 cells/ml脾淋巴细胞悬液备用；
3. 制备骨髓瘤细胞；
4. 取培养于KD-Hybri完全培养液、处于对数生长期的骨髓瘤细胞进行细胞计数，取1×107细胞备用；
5. PEG化学融合；
6. 将骨髓瘤细胞与脾细胞按适当比例混合于50ml离心管，用KD-Advance培养液洗涤1次（离心，1500rpm，8min，弃上清）轻轻弹击离心管底，使细胞沉淀略松动后在37℃水浴中进行PEG融合。

# 杂交瘤的阳性筛选

使用**KD-Clone（产品号K07001）**培养液进行杂交瘤单克隆筛选。客户可根据抗原特性选取合适的实验方法进行阳性克隆筛选，保留阳性样品后对细胞进行多次单克隆以确保单克隆的稳定性。

添加**KD-HybriGro（产品号K50002）**促生长组合因子可显著提高不同细胞株的克隆形成率，提高克隆细胞存活率。添加使用方法客户可**参考“珠海恺瑞杂交瘤促生长组合因子使用指南”**

# 杂交瘤的高密度无血清培养

杂交瘤细胞的高密度无血清培养方法客户可参考“**珠海恺瑞杂交瘤细胞高密度无血清悬浮震荡培养使用指南”。**