

杂交瘤技术制备单克隆抗体的主要步骤及原理

产品名称	杂交瘤技术制备单克隆抗体的主要步骤及原理
公司名称	北京义翘神州科技股份有限公司
价格	.00/件
规格参数	
公司地址	北京市北京经济技术开发区科创十街18号院9号楼
联系电话	400-8909989 15101180634

产品详情

杂交瘤技术制备单克隆抗体的主要步骤：

- (1) 抗原制备；
- (2) 免疫动物；
- (3) 免疫脾细胞和骨髓瘤细胞的制备；
- (4) 细胞融合；
- (5) 杂交瘤细胞的选择培养；
- (6) 杂交瘤细胞的筛选；
- (7) 杂交瘤细胞的克隆化；
- (8) 单克隆抗体的检定；
- (9) 分泌单克隆抗体杂交瘤细胞系的建立；
- (10) 单克隆抗体的大量制备。

杂交瘤技术制备单克隆抗体的基本原理

1) 淋巴细胞产生抗体的克隆选择学说，即一个致敏的B细胞克隆只产生一种抗体。动物体内的B细胞在特定外来抗原的刺激下，每个致敏的B细胞可以大量增殖分化成浆细胞，以分泌只针对于该抗原单一决定簇的抗体。这种抗体具有特异性，动物免疫作用就是用特定的外来抗原对动物进行一次或多次免疫，以刺激识别该抗原的B细胞大量增殖，从而得到大量产生专一反应的B细胞。

2) 细胞融合技术产生的杂交瘤细胞可以保持双方亲代细胞的特性。

3) 利用代谢缺陷补救机理筛选出杂交瘤细胞，并进行克隆化，然后进行大量培养增殖，制备所需的McAb。

在基础免疫3周后，进行第二次免疫（加强免疫），第3天取出小鼠脾脏，通过金属网制备游离的单个脾细胞悬液。然后，将脾细胞与骨髓瘤细胞在聚乙二醇（polyethyleneglycol, PEG）存在下进行融合。当两个细胞紧密接触的时候，其细胞膜可能融合在一起，而融合的细胞含有两个不同的细胞核，称为异核体（heterokaryon），在适当的条件下，它们可以融合在一起，产生具有原来两个细胞基因信息的单个核细胞，称为杂交细胞（hybridcell）。

PEG目前是淋巴细胞杂交瘤技术中应用广泛的融合剂。PEG促进细胞融合的确切机制尚不是很清楚，可能的机制是PEG可使细胞聚集在一起，PEG可能与邻近细胞膜的水分相结合，使细胞之间水分被取代，由此降低细胞表面的极性，导致脂质双层不稳定，引起细胞膜的融合。

下面简要介绍单克隆抗体的制备过程：

1、免疫动物免疫动物是用目的抗原免疫小鼠，使小鼠产生致敏B淋巴细胞的过程。一般选用6-8周龄雌性Balb/c小鼠，按照预先制定的免疫方案进行免疫注射。抗原通过血液循环或淋巴循环进入外周免疫器官，刺激相应B淋巴细胞克隆，使其活化、增殖，并分化成为致敏B淋巴细胞。

2、细胞融合采用眼球摘除放血法处死小鼠，无菌操作取出脾脏，在平皿内挤压研磨，制备脾细胞悬液。将准备好的同系骨髓瘤细胞与小鼠脾细胞按一定比例混合，并加入促融合剂聚乙二醇。在聚乙二醇作用下，各种淋巴细胞可与骨髓瘤细胞发生融合，形成杂交瘤细胞。

3、选择性培养选择性培养的目的是筛选融合的杂交瘤细胞，一般采用HAT选择性培养基。在HAT培养基中，未融合的骨髓瘤细胞因缺乏次黄嘌呤-鸟嘌呤-磷酸核糖转移酶，不能利用补救途径合成DNA而死亡。

未融合的淋巴细胞虽具有次黄嘌呤-鸟嘌呤-磷酸核糖转移酶，但其本身不能在体外长期存活也逐渐死亡。

只有融合的杂交瘤细胞由于从脾细胞获得了次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶，并具有骨髓瘤细胞能无限增殖的特性，因此能在HAT培养基中存活和增殖。

4、杂交瘤阳性克隆的筛选与克隆化在HAT培养基中生长的杂交瘤细胞，只有少数是分泌预定特异性单克隆抗体的细胞，因此，必须进行筛选和克隆化。通常采用有限稀释法进行杂交瘤细胞的克隆化培养。采用灵敏、快速、特异的免疫学方法，筛选出能产生所需单克隆抗体的阳性杂交瘤细胞，并进行克隆扩增。

经过全面鉴定其所分泌单克隆抗体的免疫球蛋白类型、亚类、特异性、亲和力、识别抗原的表位及其分子量后，及时进行冻存。

5、单克隆抗体的大量制备单克隆抗体的大量制备重要采用动物体内诱生法和体外培养法。

(1) 体内诱生法取Balb/c小鼠，首先腹腔注射0.5ml液体石蜡或降植烷进行预处理。1-2周后，腹腔内接种杂交瘤细胞。杂交瘤细胞在小鼠腹腔内增殖，并产生和分泌单克隆抗体。约1-2周，可见小鼠腹部膨大。用注射器抽取腹水，即可获得大量单克隆抗体。

(2) 体外培养法将杂交瘤细胞置于培养瓶中进行培养。在培养过程中，杂交瘤细胞产生并分泌单克隆抗体，收集培养上清液，离心去除细胞及其碎片，即可获得所需要的单克隆抗体。但这种方法产

生的抗体量有限。近年来，各种新型培养技术和装置不断出现，大大提高了抗体的生产量。

义翘神州 (cn.sinobiological.com) 是一家抗体试剂和定制抗体的供应商，目前已成功交付了数以万计的抗

义翘神州

提供了一套全面的解决方案。我们将与您通力合作，完成从抗原设计、纯化和抗体验证的完整过程。义翘神州拥有包括杂交瘤、噬菌体抗体库和单B细胞在内的抗体发现平台，我们可根据您感兴趣的靶点、抗体应用和时间表等，来选择合适的技术平台。此外，义翘神州还提供ELISA、WB、流式细胞术、IHC、基于细胞的筛选、亲和力检测等多种表征和筛选技术，确保鉴定到佳的抗体，以满足研究、诊断和治疗领域等应用。

义翘神州单克隆抗体开发服务推荐：