



# 使用ClonaCell™-HY进行半固体克隆 在ClonaCell™-HY培养基D中高效形成克隆

## 单克隆抗体的开发

单克隆抗体 (mAbs) 在多个领域中被广泛应用, 包括实验室研究、免疫学检测的研发、生物制药靶向验证, 以及临床前开发。mAbs的制备则依赖于生成稳定、高产的杂交瘤细胞系。杂交瘤的生成通过将骨髓瘤细胞与通常源自免疫小鼠的脾细胞融合, 随后将杂交瘤培养于可促进其生长, 并含有适当选择剂的培养基中, 以对其进行挑选。对于单克隆抗体的研发而言, 从融合后所获得的多克隆杂交瘤细胞池中克隆出稳定、高产的细胞系, 是一个必要的, 且经常比较耗费精力的步骤。杂交瘤的克隆方法包括有限稀释克隆、流式细胞分选 (FACS), 和使用甲基纤维素培养基进行半固体克隆。

## 以甲基纤维素培养基进行半固体克隆

在半固体克隆中, 单个细胞被接种于黏性培养基中, 并生长为明显呈离散状分布的单克隆集落 (图1)。挑取这些离散的集落即可挑选出具有高机率单克隆性的克隆。与在液体培养基中进行挑选和克隆的有限稀释法相比, 在杂交瘤融合后采用半固体克隆可以简化生成细胞系的过程, 因为该方法需要的培养板和培养基更少, 而挑选出的克隆数量更多, 且具有高机率的单克隆性。此外, 生长快速和生长缓慢的克隆在半固体克隆过程中都能形成离散的集落, 因此有更加多样化的克隆可供挑选和筛选。这种多样性提高了找到具有所需特性的稀有克隆的可能性。半固体克隆也可用于对现有的、因放置了一段时间而产量变差的杂交瘤细胞系重新克隆, 以获取其中产量高的细胞。

## ClonaCell™-HY甲基纤维素克隆培养基

ClonaCell™-HY培养基D和不含HAT的ClonaCell™-HY培养基D是高性能的甲基纤维素培养基, 用于杂交瘤的半固体克隆。ClonaCell™-HY培养基D含有次黄嘌呤 (Hypoxanthine)、氨基嘌呤 (Aminopterin) 和胸苷 (Thymidine) 选择剂 (即: HAT), 而不含HAT的ClonaCell™-HY培养基D可与其它选择系统配合以进行克隆。与另一供应商所提供的用于杂交瘤和骨髓瘤细胞的甲基纤维素培养基相比, ClonaCell™-HY培养基D支持生成的杂交瘤明显更多 (图1和图2)。在这些实验中有大量的杂交瘤存活并在ClonaCell™-

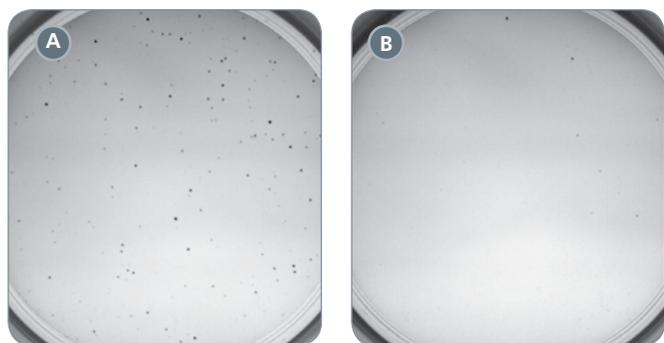
## 获得目标克隆, 更加快捷! 使用ClonaCell™-HY培养基D进行半固体克隆的优势:

- 可挑选大量独特的杂交瘤, 每种都具有高机率的单克隆性
- 可使小鼠和人杂交瘤高效生长, 确保有更多的融合产物能够存活, 以形成集落
- 可挑选具有高度多样性的克隆, 有利于更容易地找到稀有克隆

**产品:** ClonaCell™-HY培养基D  
**产品号 #:** 03804 90 mL  
(用于制备100 mL完全培养基)

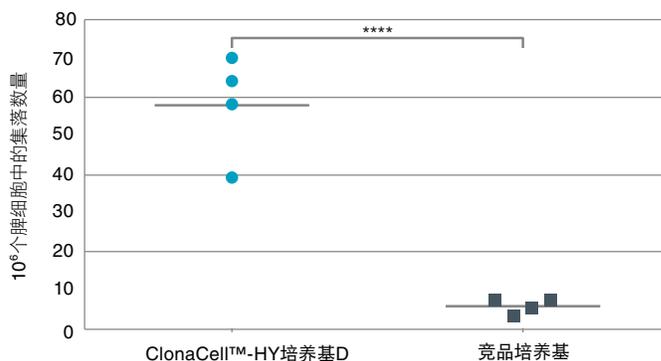
HY中形成集落, 使每只小鼠所分离出的杂交瘤更多, 并确保有价值的克隆在克隆过程中不会丢失。在ClonaCell™-HY中通过半固体克隆法经挑选和克隆后获得的杂交瘤和阳性克隆的总数, 与在类似的液体培养基 (ClonaCell™-HY液体HAT选择培养基, 产品号 #03831) 中通过有限稀释克隆法所获得的总数近似。ClonaCell™-HY甲基纤维素培养基既可应用于半固体克隆后的手动集落挑选, 也可应用于通过仪器 (ClonaCell™ EasyPick和ClonePix™ 2-FL (Molecular Devices®)) 进行的自动集落挑选。

# 使用ClonaCell™-HY进行半固体克隆 在ClonaCell™-HY培养基D中高效形成克隆



**图1.** 与竞品培养基\*相比，在ClonaCell™-HY培养基D中进行杂交瘤细胞半固体克隆会产生更多集落

将通过蛋白抗原卵清蛋白免疫的BALB/c小鼠的脾细胞与SP2/0骨髓瘤细胞相融合，并以ClonaCell™-HY技术手册（文档号 #28411，融合方法A）中所描述的标准流程进行接种。将相同数量的细胞悬浮于10 mL (A) ClonaCell™-HY培养基D或 (B) 来自其它供应商\*，并按其说明书制备的甲基纤维素培养基中。将细胞接种于10 cm培养皿中，并在37°C和5% CO<sub>2</sub>的条件下于加湿培养箱中培养14天，然后使用ClonaCell™ EasyPick仪器（产品号 #30000）自动对集落进行拍照和计数。



**图2.** 将融合后的杂交瘤分别接种于ClonaCell™-HY培养基D与竞品培养基\*中，两者所产生集落的数量比较

将源自四只卵清蛋白免疫的BALB/c小鼠的脾细胞与SP2/0骨髓瘤细胞相融合，并以ClonaCell™-HY技术手册（文档号 #28411，融合方法A）中所描述的标准流程进行接种。将每只小鼠的细胞以4个接种密度接种于ClonaCell™-HY培养基D，或由其它供应商\*提供的甲基纤维素培养基中。培养14天后，使用ClonaCell™ EasyPick平台自动进行集落计数。该散点图显示了四只免疫小鼠中对应每只小鼠的每10<sup>6</sup>个脾细胞中所形成的集落平均数。横线表示每个培养基对应的平均值。培养间的差异显著（泊松回归:  $p < 0.0001$ ）。



## 视频

了解更多关于半固体克隆的过程及优势:

[www.stemcell.com/Try\\_SSC](http://www.stemcell.com/Try_SSC)

产品	产品号 #	说明	推荐用于
ClonaCell™-HY培养基D	03804	甲基纤维素杂交瘤挑选及克隆培养基，含HAT	杂交瘤的半固体克隆和HAT挑选
不含HAT的ClonaCell™-HY培养基D	03810	甲基纤维素杂交瘤克隆培养基，不含选择剂	使用有别于HAT的挑选系统，对杂交瘤进行半固体克隆
ClonaCell™-HY试剂盒	03800	用于杂交瘤融合与克隆的完全培养基试剂盒	通过HAT选择剂进行半固体克隆，以骨髓瘤和脾细胞生成单克隆杂交瘤
ClonaCell™-HY培养基E	03805	杂交瘤生长培养基	支持小鼠和人杂交瘤培养物的高效生长
ClonaCell™-HY培养基A	03801	骨髓瘤生长培养基	支持骨髓瘤培养物的生长，和杂交瘤的长期维持培养

HAT = 次黄嘌呤-氨基喋呤-胸苷 (Hypoxanthine-Aminopterin-Thymidine)

\*CloneMedia (Molecular Devices®，产品号 #K8610)，添加了与ClonaCell™-HY培养基D (产品号 #03804) 中相同浓度的HAT。