



抗体制备 相关产品

使用ClonaCell™快速获得目标克隆

STEMCELL Technologies的ClonaCell™产品线为哺乳动物细胞系的制备和杂交瘤的克隆提供先进的方法，为您在制备哺乳动物细胞系的过程中节省大量的时间和资源。ClonaCell™培养基有半固体培养基和液体培养基，可高效培养并保存由小鼠，大鼠，人，兔和仓鼠细胞产生的多种杂交瘤，在细胞系开发过程中提高克隆效率。ClonaCell™系列产品包括不同级别的配方，如含血清、无动物源成分、化学成分的培养基。通过卓越的产品质量、创新的克隆技术，ClonaCell™产品将帮助您以先进的方法快速获得目标克隆。

杂交瘤细胞制备

杂交瘤细胞是指骨髓瘤细胞和B淋巴细胞融合而成的可在体外长期存活并分泌抗体的细胞，杂交瘤技术被广泛运用于生产单克隆抗体。杂交瘤细胞的制备一般有几个过程，细胞融合、筛选、克隆和亚克隆、扩增。我们可提供一整套杂交瘤细胞制备的方案。

B淋巴细胞的获取

通过磁珠分选快速分离获得高纯度高活性的B淋巴细胞。动物经过免疫后，可产生大量B淋巴细胞，效应B细胞和记忆B细胞，其中具有抗体合成

功能的为效应B细胞即浆细胞。高纯度的浆细胞与骨髓瘤细胞融合可大大提高阳性克隆率。

EasySep™小鼠Pan-B细胞分选试剂盒 (#19844)

EasySep™小鼠Pan-B细胞分选试剂盒通过负选的方式从小鼠脾脏中分选出总B细胞，包括B-2 B细胞，B-1 B细胞和浆细胞。

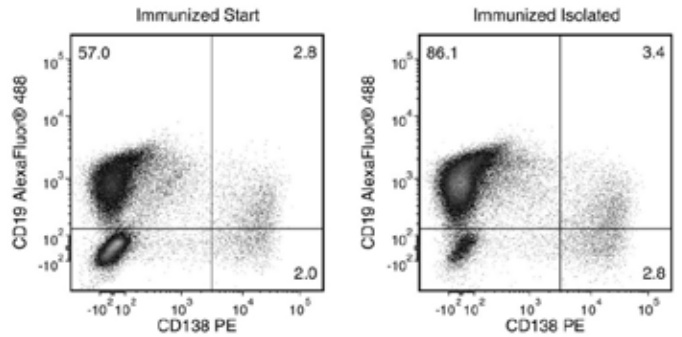


图1. EasySep™小鼠Pan-B细胞分选试剂盒分选经过免疫的C57BL/6小鼠以小鼠脾脏为样本，分选出Pan-B细胞的含量 (CD19⁺, CD19⁺ CD138⁺和CD138⁺) 通常为91-98%。

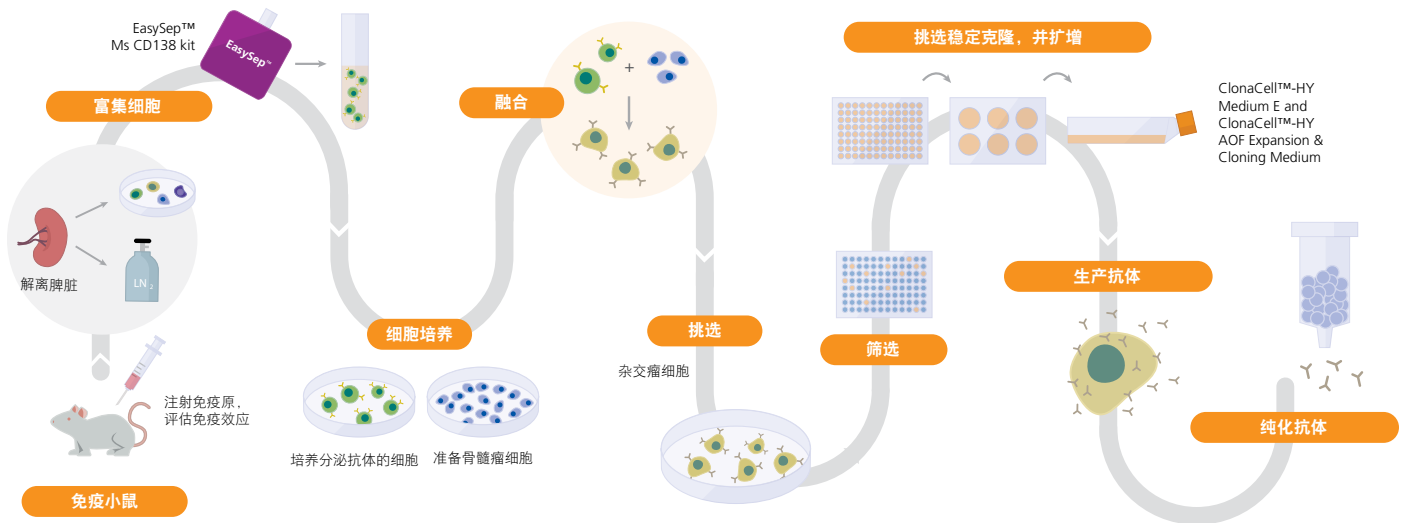


图2. 使用EasySep™和ClonaCell™进行杂交瘤制备

来自免疫后的动物的脾脏 (或其他淋巴组织) 用于与骨髓瘤细胞融合生成杂交瘤细胞。EasySep™ Mouse CD138试剂盒可以在融合前对分泌抗体的细胞进行富集。使用这些分泌抗体的细胞群进行融合可以减少待筛选的克隆的数量并提高抗原特异性的命中率。杂交瘤细胞主要使用抗体分泌和靶标特异性进行筛选，得到的克隆使用ClonaCell™-HY培养基E或ClonaCell™-HY AOF扩增&克隆培养基进行稳定化培养。这些培养基优化用于在抗体筛选和单克隆确定期间进行培养。稳定后的克隆可以用于生产抗体，用于功能性验证。在无血清培养基 (ClonaCell™-HY AOF扩增&克隆培养基) 中生产的抗体可在不含免疫球蛋白 (血清来源) 的环境中进行分析和/或纯化。

EasySep™小鼠CD138正选试剂盒 (#18957)

EasySep™小鼠CD138正选试剂盒通过正选的方式从小鼠脾脏、淋巴结和骨髓中分选出CD138⁺细胞。目的细胞与抗体和磁珠相结合，并使用EasySep™磁极在不含有分离柱的情况下进行细胞分选。分选出的细胞可立即用于下游应用，如流式细胞术，细胞培养和杂交瘤的产生等。

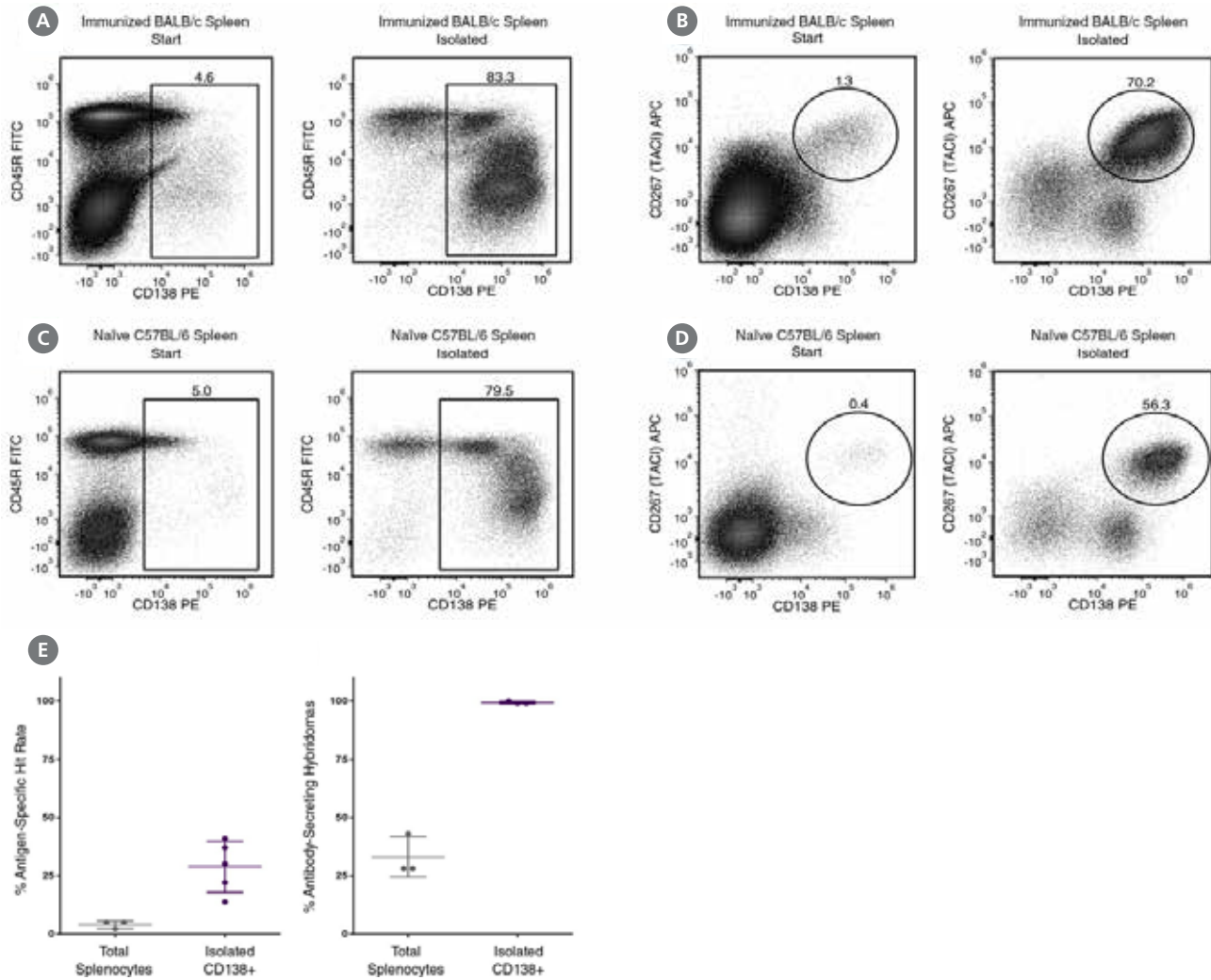


图3. 使用EasySep™小鼠CD138正选试剂盒分选浆细胞后进行融合可大大提高克隆效率

(A) 以免疫的BALB/c小鼠脾脏为样本，分选出的CD138⁺细胞含量通常为 $81.5 \pm 4.9\%$ (平均值 \pm SD)。在上述例子中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为4.6%和83.3%。
 (B) 以免疫的BALB/c小鼠脾脏为样本，分选出的浆细胞 (CD138⁺CD267⁺ (TACI)⁺) 含量通常为 $68.5 \pm 11.3\%$ (平均值 \pm SD)。在上述例子中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为1.3%和70.2%。
 (C) 以naive C57BL/6小鼠脾脏为样本，分选出的CD138⁺细胞含量通常为 $78.3 \pm 5.7\%$ (平均值 \pm SD)。在上述例子中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为5.0%和79.5%。
 (D) 以naive C57BL/6小鼠脾脏为样本，分选出的浆细胞 (CD138⁺CD267⁺ (TACI)⁺) 含量通常为 $50.8 \pm 10.0\%$ (平均值 \pm SD)。在上述例子中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为0.4%和56.3%。
 (E) 将用各种抗原免疫的小鼠分选出的CD138⁺细胞或总脾脏细胞与Sp2/0小鼠骨髓瘤细胞融合，并使用ClonaCell™-HY杂交瘤试剂盒 (目录号03800) 铺在半固体培养基中。通过ELISA检测总脾脏细胞和CD138⁺细胞的抗原特异性命中率%分别为 $4.1 \pm 1.6\%$ 和 $28.8 \pm 11.0\%$ (平均值 \pm SD)。
 (F) 将用各种抗原免疫的小鼠分选出的CD138⁺细胞或总脾脏细胞与Sp2/0小鼠骨髓瘤细胞融合，并使用ClonaCell™-HY杂交瘤试剂盒 (目录号03800) 铺在半固体培养基中。通过ELISA检测总脾脏细胞和CD138⁺细胞的分泌抗原的杂交瘤的百分比分别为 $33.0 \pm 8.7\%$ 和 $99.3 \pm 0.6\%$ (平均值 \pm SD)。

挑选

即挑选出由骨髓瘤细胞和B淋巴细胞通过电融合或PEG融合而成的杂交瘤细胞，一般以HAT作为选择剂。STEMCELL为半固体克隆及液体克隆提供两款优质培养基，用于淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合后筛选出杂交瘤。他们分别是甲基纤维素半固体培养基ClonaCell™-HY培养基D (#03804)及ClonaCell™-HY液体HAT挑选培养基 (#03831)。这两款培养基均含有预筛选的血清和选择剂HAT，可大大提高杂交瘤在筛选中的存活率，从而提高克隆阳性率。

扩增

经过HAT挑选后的杂交瘤可以通过两种级别不同的培养基进行扩增培养：含有血清的ClonaCell™-HY培养基E (#03805) 及不含血清、无动物源成分的ClonaCell™-HY AOF扩增&克隆培养基 (#03835)。此两种培养基营养成分丰富，可支持杂交瘤在苛刻的条件下（如单细胞克隆、亚克隆、冻存复苏后扩增等）生长。ClonaCell™-HY AOF培养基，不含血清、无动物源成分，避免了血清在后期蛋白检测和提纯中的影响。

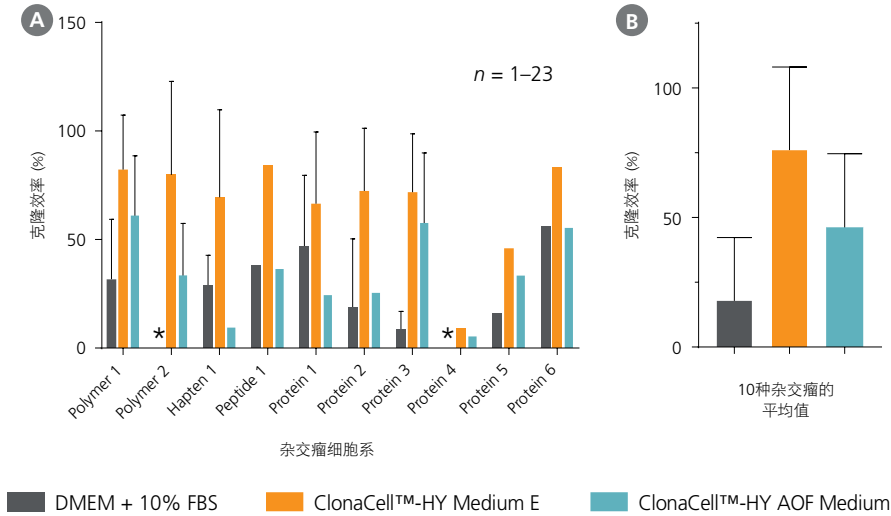


图4. 在MediumE及AOF培养基中进行亚克隆的克隆效率大大高于传统的DMEM+ 10%FBS培养基

针对不同抗原分泌特异性抗体的杂交瘤克隆在不同培养基中用有限稀释的方法进行亚克隆，分别为DMEM+ 10% FBS，含血清的ClonaCell™-HY培养基E，无血清无动物源成分 (AOF) ClonaCell™-HY AOF扩增&克隆培养基。培养12 - 14天 (37°C, 5% CO₂)，在显微镜下观察并评估其生长。(A) 克隆效率，通过泊松统计法使用Hu&Smith (2009, J Immunol Meth, 347: 70-78) 描述的ELDA方法评估。(B) 在每种细胞培养基中获得的十个杂交瘤细胞系的平均克隆效率。*在18次单独的Polymer 2实验和1次protein 4实验中，DMEM+ 10% FBS的克隆效率为0%。

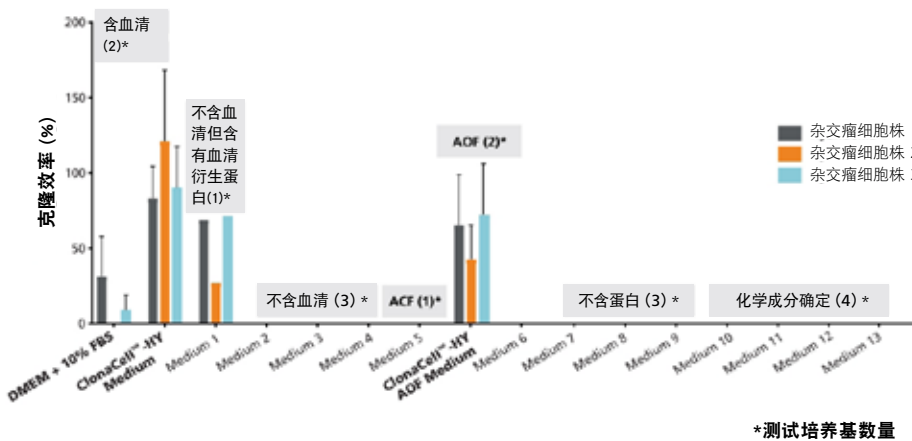


图5. 在MediumE及AOF培养基中进行培养的克隆效率大大高于其他商业培养基

使用以上商业培养基对杂交瘤株进行培养并采用有限稀释法进行亚克隆 (n=1-5)。培养10天，使用Cell Metric™仪器 (Solentim) 对培养血进行分析。克隆效率，通过泊松统计法使用Hu&Smith (2009, J Immunol Meth, 347: 70-78) 描述的ELDA方法评估。数据表示为平均值+1 SD。

用于杂交瘤制备的产品

细胞类型	货号 #	规格	说明
EasySep™小鼠Pan-B细胞分选试剂盒	19844	1 kit	通过负选的方式从小鼠脾脏中分选出总B细胞
EasySep™小鼠CD138正选试剂盒	18957	1 kit	通过正选的方式从小鼠脾脏、淋巴结和骨髓中分选出CD138 ⁺ 细胞
ClonaCell™-HY试剂盒	03800	1 kit	包含ClonaCell™-HY培养基A、B、C、D、E、和ClonaCell™-HY PEG各1瓶,也可单独购买各组分
ClonaCell™-HY培养基A (融合前)	03801	500 mL	骨髓瘤生长培养基
ClonaCell™-HY培养基B (融合)	03802	500 mL	细胞融合前及融合过程中用于清洗细胞的培养基
ClonaCell™-HY PEG (融合)	03806	1.5 mL	细胞融合试剂
ClonaCell™-HY培养基C (复苏)	03803	100 mL	用于提升杂交瘤细胞存活力的融合复苏培养基
ClonaCell™-HY培养基D (挑选和克隆)	03804	90 mL	半固体HAT杂交瘤细胞挑选培养基
ClonaCell™-HY 液体HAT挑选培养基 (挑选和克隆)	03831	500 mL	液体HAT杂交瘤细胞挑选培养基
ClonaCell™-HY培养基D无HAT (挑选和克隆)	03810	90 mL	半固体无HAT杂交瘤细胞挑选培养基
ClonaCell™-HY培养基E (扩增)	03805	500 mL	杂交瘤细胞扩增培养基
ClonaCell™-HY AOF扩增和克隆培养基 (扩增)	03835	500 mL	杂交瘤细胞扩增培养基

CHO细胞的克隆及培养

常用的重组蛋白表达系统有真核表达系统和原核表达系统。真核表达系统较原核表达系统有明显的优势, 因为其具有完整的蛋白折叠、组装和翻译后修饰。中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 已被广泛应用于治疗性重组蛋白药物的研发和生产。

CHO克隆、扩增添加物

ClonaCell™-CHO ACF添加物 (#03820) 是40X浓缩的无血清无动物成分的培养基添加物, 用于培养CHO、HEK等真核细胞。该添加物可与液体或半固体培养基配合使用, 提高CHO细胞的生长和单细胞克隆效率。

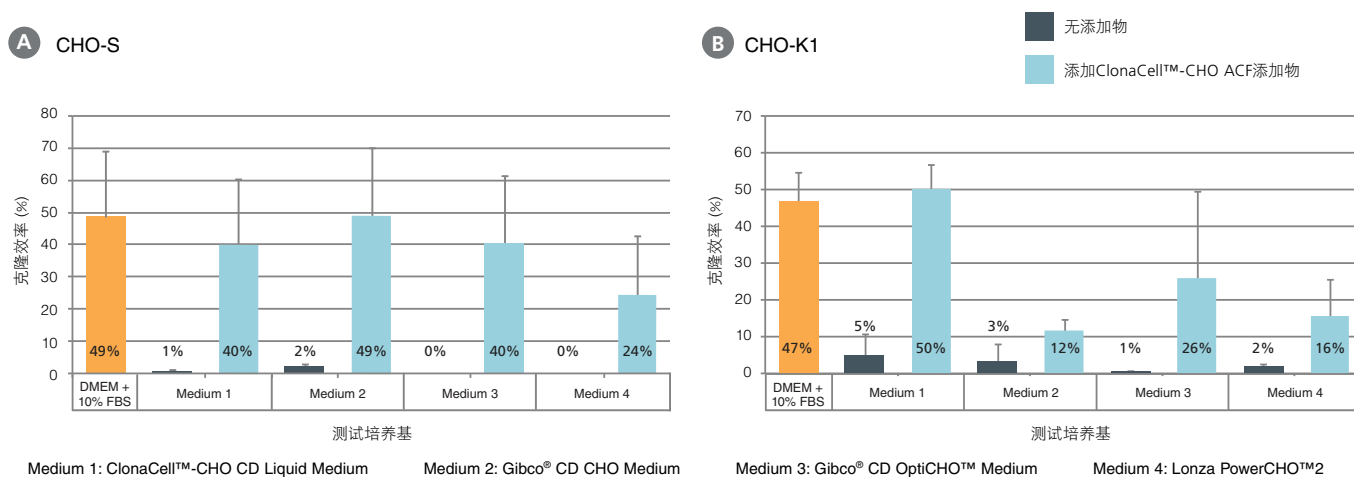


图6. ClonaCell™-CHO ACF添加物大大提高不同无蛋白培养基中CHO-S和CHO-K1细胞的克隆效率

该图为未转染的CHO-S (A) 和CHO-K1 (B) 细胞的克隆效率, 定义为培养14天后96孔板中包含100个以上细胞的孔的百分比。将96孔板的各个孔以每孔一个细胞的平均细胞密度接种到200μL细胞培养基中, 并在37°C和5% CO₂下培养。所有条件均包含6-8 mM L-谷氨酰胺。蓝色柱为添加ClonaCell™-CHO ACF添加物, 灰色柱为不添加ClonaCell™-CHO ACF添加物, 橙色柱为在DMEM+ 10% FBS培养基中培养。

CHO克隆筛选培养基

STEMCELL为CHO克隆筛选提供ClonaCell™-CHO CD液体培养基 (#03817)，及多种级别的半固体培养基。使用半固体培养基进行克隆可获得较高的单克隆几率，防止稀有克隆的丢失。单个细胞及其后代克隆在半固体培养基中独立生长，可防止快速生长的细胞因过度生长而失去稀有的高产克隆。

产品	级别	货号 #	规格	说明
ClonaCell™-CHO CD液体培养基	CD (化学成分确定)	03817	500 mL	液体CHO细胞挑选和扩增培养基, 化学成分确定, 不含蛋白和动物成分, 不含左旋谷氨酰胺或选择剂, 适用于DHFR和GS的挑选
ClonaCell™-CHO CD培养基	CD (化学成分确定)	03815	90 mL	半固体CHO细胞挑选培养基, 化学成分确定, 不含蛋白和动物成分, 不含左旋谷氨酰胺或选择剂, 适用于DHFR和GS的挑选
ClonaCell™-CHO ACF培养基	ACF (无动物源成分)	03816	90 mL	半固体CHO细胞挑选培养基, 含有重组蛋白, 不含动物成分, 不含左旋谷氨酰胺或选择剂, 适用于DHFR和GS的挑选
ClonaCell™-TCS培养基	含血清	03814	80 mL	半固体挑选培养基, 含有预筛选的FBS和BSA, 不含选择剂
ClonaCell™-TCS/G418试剂盒	含血清	03822	1 kit	半固体挑选培养基, 含有预筛选的FBS和BSA, 以G418抗生素作为选择剂, 适用于抗G418细胞系的挑选和克隆
ClonaCell™-TCS/Hygromycin试剂盒	含血清	03823	1 kit	半固体挑选培养基, 含有预筛选的FBS和BSA, 以潮霉素B抗生素作为选择剂, 适用于抗潮霉素B细胞系的挑选和克隆
ClonaCell™ FLEX	CD (化学成分确定)	03818	45 mL	半固体挑选培养基, 化学成分确定, 不含蛋白和动物成分, 不含左旋谷氨酰胺或选择剂。FLEX的配制更具灵活性, 它允许使用者以一比一的比例加入自用的2X浓度的液体培养基。该培养基适用于对DHFR, GS和HAT的挑选
CryoStor® CS10	cGMP	07930	100 mL	无动物源成分, 使用USP级成分以cGMP标准生产, 可保持细胞的高活性

抗体制备 相关产品

使用ClonaCell™快速获得目标克隆



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

网站: WWW.STEMCELL.COM

微信ID: STEMCELLTech

