



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

电诱导细胞融合试剂盒

简介:

细胞融合(cell fusion)是两个或两个以上细胞融合并形成一个新的细胞过程。在自然情况下,体内、体外发生的细胞融合的现象称为自然融合;体外培养的细胞可用人工方法诱导相同或者不同细胞间发生融合,称为人工诱导融合;体外培养的单层贴壁细胞或悬浮细胞均可以做融合,但成功概率较大的是单层贴壁细胞。

源叶生物 电诱导细胞融合试剂盒(Electrofusion of cell)是 20 世纪 80 年代发展起来的一项生物工程技术,其作用原理是先使细胞在电场中极化成偶极子,并延电力线成串排列,用高强度、短时程的电脉冲击穿细胞膜,促使细胞发生融合,该细胞融合方法具有无毒、融合频率高、易控制等优点。该试剂盒有效成分经严格无菌处理。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称	编号	Storage
	R30007 20T	
试剂(A): PM 脉冲缓冲液	500ml	4℃
试剂(B): PMF 融合后液	100ml	4℃
试剂(C): HAT Media Supplement(50×)	10ml	-20℃
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、BALB/C 小鼠、SP2/0 骨髓瘤细胞
- 2、离心管
- 3、离心机



- 4、RPMI 1640 培养基、胎牛血清
- 5、200 目细胞筛
- 6、显微镜
- 7、细胞电融合仪
- 8、CO₂ 培养箱
- 9、96 孔、24 孔培养板

操作步骤(仅供参考):

1、准备细胞:

① SP2/0 骨髓瘤细胞: 融合前, 提前 1 天将 SP2/0 骨髓瘤细胞传代, 培养至其处于对数生长期。将该细胞收集于无菌离心管中, 1000g 离心 8~10min, 弃上清液, 加入 10ml 无血清 RPMI 1640 培养基, 将细胞沉淀悬浮起来备用。

② 淋巴细胞: 融合前, 取经 3 次用目的抗原免疫的 BALB/C 小鼠脾脏, 每次免疫间隔 2~3 周, 最后一次免疫后 3~4 天处死小鼠, 取出脾脏, 加入 10ml 无血清 RPMI 1640 培养基, 将细胞沉淀悬浮起来备用。

③ 饲养细胞: 融合前, 收集健康的 BALB/C 小鼠腹腔中的腹水, 将腹水(巨噬细胞悬液) 1000g 离心 8~10min, 弃上清液, 加入 25ml HAT 选择培养液(按 HAT Media Supplement: 含胎牛血清的 RPMI 1640 培养液=1: 49 配制), 混匀, 接种到 96 孔或 24 孔培养板, 经培养形成的饲养层细胞, 可以辅助新的融合细胞的生长。

2、细胞融合:

①将骨髓瘤细胞和淋巴细胞按 5: 1 比例混合, 细胞密度为 1.5×10^7 个/ml, 细胞悬液以 1000g 离心 8~10min, 弃上清液。

②将细胞沉淀加入 5ml PM 脉冲缓冲液, 1000g 离心 8~10min, 弃上清液; 重复 1 次该步骤。

③用少量 PM 脉冲缓冲液重悬细胞沉淀, 一般细胞浓度应达到 2×10^6 个/ml, 注入细胞电融合仪的电极小池或融合槽。注意: 应根据不同体积的电极小池或融合槽加入细胞悬液, 大多数细胞电融合仪的融合容积在 20~4000 μ l 之



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

间。按如下条件电泳: 交流电场频率 1MHz, 振幅 250V/cm, 时间 30s。在显微镜下观察, 看到 80%的细胞已经形成珠串时, 立即加穿孔电脉冲, 其条件为: 脉冲幅度 5kV/cm, 时间常数 20ms, 脉冲个数 5, 间隔 1s。

④1000g 离心 8~10min, 弃上清液。向细胞沉淀加入 25ml HAT 选择培养液, 混匀, 接种到 96 孔或 24 孔培养板, 37℃ 5%CO₂ 培养 12~24h。

3、筛选: 细胞融合后 12~24h, 将细胞接种到 HAT 选择培养液中, 细胞密度达到 60~80%汇合率之间, 容许细胞进一步生长, 进行异核体筛选, 4~14 天后可观察到大集落的杂交瘤细胞克隆。

结果:

一般培养 3~5 天后即可见小克隆出现, 杂交细胞较大, 呈圆形且透明, 其他细胞透光性差并逐渐死亡; 当培养 8~12 天后克隆可长至孔底面积的 30~50%, 此时可取培养上清液进行抗体检测; 一旦检测到分泌预定抗体的克隆, 应及时将阳性克隆转种 24 孔培养板进行扩大培养。

注意事项:

- 1、应注意无菌操作, 避免被微生物污染。
- 2、如需 HAT 选择系列产品, 可选择源叶生物 A Media Supplement(50×)、HT Media Supplement(50×)、HAT Media Supplement(50×)。

有效期: 6 个月有效。