

# FluorScreen™杂交瘤筛选半固体培养基

FluorScreen™ Hybridoma Screening Semi-Solid Medium

本产品需 4℃运输；4℃保存, 保质期 12 个月, 严禁冷冻。

## 货号规格

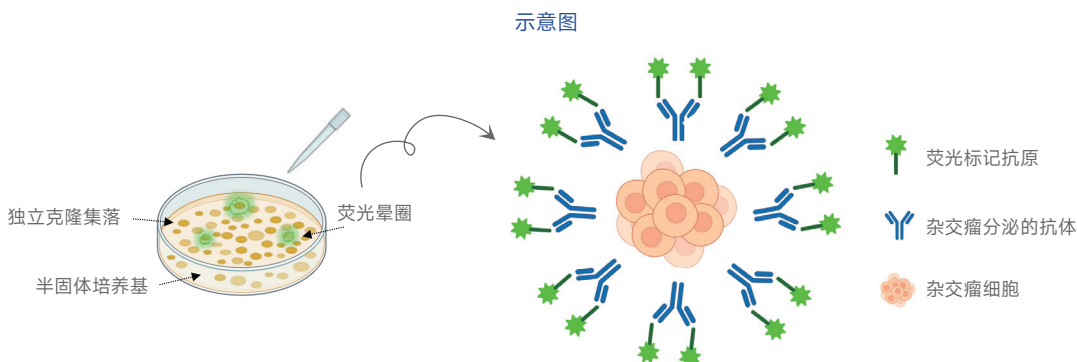
货号	规格
RZ201	100 mL

## 产品简介

本产品是预混即用型培养基, 经甲基纤维素改良, 适用于杂交瘤细胞的半固体筛选培养。在荧光显微镜下, 分泌阳性抗体的杂交瘤细胞周围形成明显荧光光点, 阴性细胞则无此特征。结合荧光体式镜使用, 可高效筛选目的单克隆, 显著节省时间与成本。

杂交瘤筛选半固体培养基已预先添加杂交瘤增殖所需核心营养成分, 可保障细胞在半固体体系内快速、稳定生长。将杂交瘤细胞以低密度接种于本培养基中, 使单细胞充分分散; 同时加入荧光标记抗原(自备)共培养。培养 3-5 天后, 单个细胞即可增殖形成独立杂交瘤克隆团。分泌特异性目标抗体的阳性克隆周围会产生明亮特异性荧光信号, 阴性克隆则无荧光显现; 荧光强度还可直观反映抗体分泌水平, 助力快速筛选获得高表达、高分泌能力的优质杂交瘤细胞株。

本产品含有甲基纤维素、血清、HAT(次黄嘌呤-氨基蝶呤-胸苷)筛选体系、青链霉素双抗、酚红指示剂及杂交瘤增殖所需其它关键添加剂。



## 产品特点

- 省时省力** — 筛选与克隆一步完成, 周期短成本低;
- 保真表位** — 液相半固态环境抗原抗体结合, 表位构象更天然, 优于传统ELISA固相筛选;
- 可视追踪** — 荧光信号直观定位阳性克隆, 强度指示分泌水平, 避免阳性克隆丢失。

## 注意事项

1. 本产品使用前须充分混匀;
2. 实验全程须严格无菌操作;
3. 铺板操作须轻柔, 尽量避免产生气泡;
4. 孵育期间保持高湿环境, 防止培养基蒸发;
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
6. 本产品仅限科研使用。

## 操作步骤

### 1. 准备荧光标记抗原和制备杂交瘤细胞(具体步骤此处从略)

- 注意: ① 荧光标记抗原需用户自备,常用 488、FITC 等荧光染料标记;或在重组抗原制备时,将 GFP 等荧光蛋白与目的基因融合表达;
- ② 杂交瘤细胞融合前至少 1 周复苏传代骨髓瘤细胞 SP2/0,确保无支原体污染,融合当天处于对数生长期;
- ③ SP2/0 与 B 淋巴细胞融合后的细胞较为脆弱,须先将融合细胞置于含细胞因子及 HAT 的液体培养基中,37°C、5% CO<sub>2</sub>培养箱孵育 2-4 h,促进其恢复

### 2. 半固体克隆和筛选(以 6 孔板为例)

杂交瘤筛选半固体培养基使用前须充分混匀。

#### 用于融合后初次筛选

根据融合时 SP2/0 细胞用量计算细胞密度,按表一用量将杂交瘤筛选半固体培养基、杂交瘤细胞和荧光抗原加入 6 孔板的同一个孔中,轻柔混匀,置于 37°C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养 5 天。

表一

试剂/细胞	用量
杂交瘤筛选半固体培养基	3 mL/孔
杂交瘤细胞	1×10 <sup>6</sup> ~2×10 <sup>6</sup> 个/孔
荧光抗原	终浓度50~100 nM

#### 用于亚克隆筛选

按表二用量将杂交瘤筛选半固体培养基、杂交瘤细胞和荧光抗原加入 6 孔板的同一个孔中,轻柔混匀,置于 37°C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养 5 天。

表二

试剂/细胞	用量
杂交瘤筛选半固体培养基	3 mL/孔
杂交瘤细胞	500个/孔
荧光抗原	终浓度50~100 nM

- 注意: ① 若需接种多孔(共 n 孔),建议按 n+1 孔计算试剂总量。在合适的器皿中(如 50 mL 离心管),将荧光抗原加入杂交瘤筛选半固体培养基,至终浓度 50~100 nM,涡旋混匀,瞬时离心 10 sec 除气泡,每孔分装 3 mL 至 6 孔板,最后加入杂交瘤细胞轻柔混匀;
- ② 取放细胞培养板时须动作轻缓,保持水平,避免细胞及荧光信号在半固体培养基中发生位移。

### 3. 克隆挑取与筛选(需配备荧光体式镜)

- (1) 荧光显微镜下观察阳性克隆(有荧光)的增殖状态及大致数量;
- (2) 准备 96 孔板,每孔加入 200 μL 液体培养基;
- (3) 在荧光体式镜下,用 10 μL 微量移液器吸取荧光信号阳性的细胞团(周围可见明亮荧光),转移至 96 孔板中,置于 37°C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养 2~5 天;
- (4) 待细胞覆盖孔底 30% 以上,进行后续操作: ① ELISA 检测; ② 重复亚克隆; ③ 扩大培养(按 96 孔板 → 24 孔板 → 12 孔板 → 6 孔板 → 6 cm 平皿 → 10 cm 平皿 → 摇瓶顺序逐级扩大)。