

杂交瘤技术

杂交瘤技术又称为单克隆抗体技术：将免疫动物的 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合，可以得到既能产生抗体又能无限增殖的杂交瘤细胞，利用杂交瘤细胞可以大量的生产单克隆抗体。

产生背景

杂交瘤技术是在体细胞融合的技术基础上发展而来的，1975 年，Kohler 和 Milstein 成功把免疫小鼠的脾脏 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合，形成了 B 淋巴细胞-骨髓瘤细胞杂合体，这种杂合体既能在体外培养中无限地快速增殖且存活，又能分泌单克隆抗体。随后，他们在英国《自然》杂志上发布了这一成果，并正式提出了杂交瘤的概念。

杂交瘤技术原理

单克隆抗体由单一 B 淋巴细胞分泌得到，但 B 淋巴细胞在体外不能长期存活（最多两周），因此无法制备单一 B 淋巴细胞群，也无法进行单抗的大量生产。骨髓瘤细胞不具备分泌抗体的能力，但是可以在体外培养条件下无限繁殖。将免疫 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合成杂交瘤细胞，得到的杂交细胞具有双亲细胞的遗传特性，既能像 B 淋巴细胞一样分泌抗体，又能像骨髓瘤细胞一样无限增殖，成功克服了 B 淋巴细胞在体外存活周期短的问题。对杂交瘤细胞进行培养，即可得到单克隆抗体。

细胞融合技术

细胞融合技术是杂交瘤技术的基础，通过聚乙二醇（PEG）（最常用）、仙台病毒、电转等方法对细胞进行人工诱导，可使两个细胞通过膜融合形成单个细胞。

融合细胞的筛选

HAT 培养基筛选技术是杂交瘤技术中另一个关键的技术，在 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合后，会产生多种融合结果（未融合的骨髓瘤细胞、未融合的 B 淋巴细胞、B 淋巴细胞自身融合细胞、骨髓瘤细胞自身融合细胞、正确融合的杂交瘤细胞），为了得到所需的杂交瘤细胞，必须利用 HAT 培养基对融合后的细胞进行筛选。HAT 培养基的筛选原理为：DNA 合成途径有生物合成途径与应急合成途径两种，HAT 培养基中含有次黄嘌呤（H）、氨基喋呤（A）和胸腺嘧啶核苷酸（T）等物质，氨基喋呤可以对 DNA 的生物合成途径进行阻断，骨髓瘤细胞会因为生物合成途径被阻断且自身缺乏应急合成途径导致不能增殖进而快速的死亡；而 B 淋巴细胞因缺乏体外增殖的能力，一般在 10 天左右死亡；杂交瘤细胞具有体外增殖能力且由于次黄嘌呤与胸腺嘧啶核苷酸的存在，可以通过应急途径合成

DNA 并在 HAT 培养基中正常生长，不会死亡。因此将融合后的细胞放于 HAT 培养基中培养，其他的融合结果会全部死亡，最终筛选出杂交瘤细胞。

杂交瘤细胞特点

具备抗体分泌功能

保持细胞永生性

制备流程

利用杂交瘤技术制备单克隆抗体通常操作流程为：抗原制备、抗原免疫动物、杂交瘤细胞制备、融合细胞的筛选、培养杂交瘤细胞制备抗体。（详细实验流程：[杂交瘤单克隆抗体制备 SOP](#)）

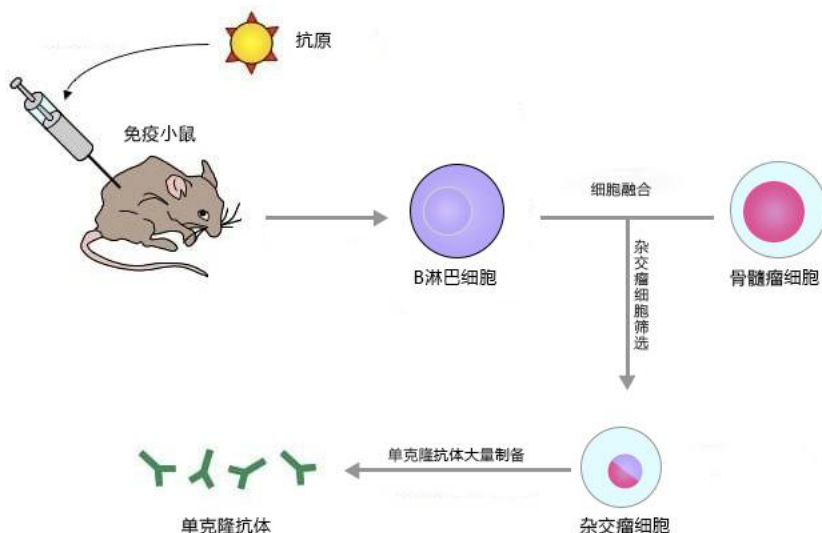


图 1：杂交瘤制备单克隆抗体流程

杂交瘤技术优缺点

优点：与传统的免疫动物方法制备抗体相比，利用杂交瘤技术可以制备出高纯度的单抗，并且可以进行单克隆抗体的大量生产。

缺点：a.操作步骤繁琐。b.利用杂交瘤技术生产出的单克隆抗体多为鼠源性，而鼠源性抗体在应用中有诸多问题，例如被人类免疫系统所识别，产生人抗鼠抗体(HAMA)反应、在人体循环系统中很快被清除等。

相关服务

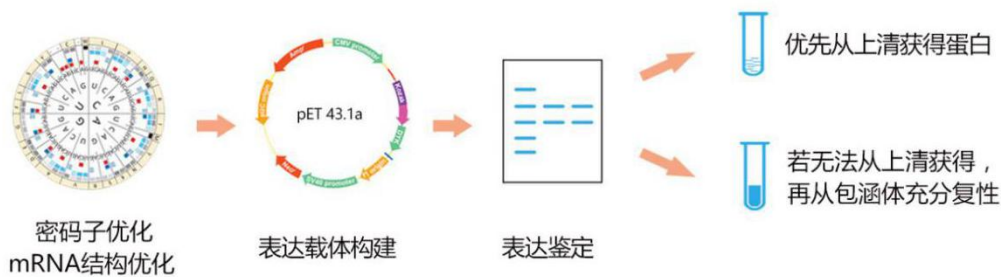
[单克隆抗体制备服务](#) :提供抗原制备 ,抗体制备 ,抗体标记 ,抗体亚型鉴定等 ,保证 WB 阳性 ,ELISA 效价>128,000。

南京德泰生物 -- 专注蛋白与抗体

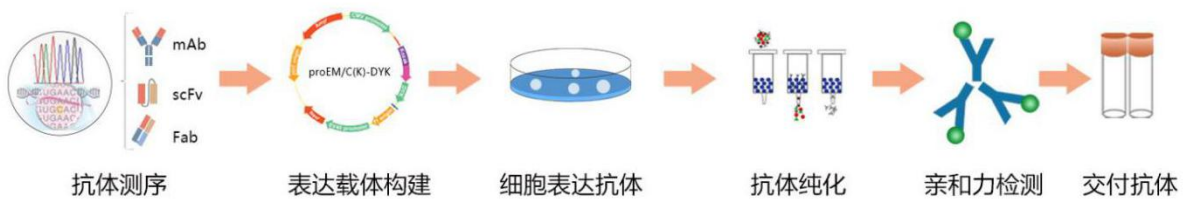
一、蛋白表达 (哺乳动物细胞表达) 蛋白被细胞充分修饰, 活性有保障



二、蛋白表达 (大肠杆菌表达) 成功率>95%, 不成功不收费, 成功有保障



三、重组抗体表达 若想改造一个抗体, 可以试试重组表达



四、稳定细胞系构建 研究级细胞系构建 & 高表达细胞株开发

