

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](#)）

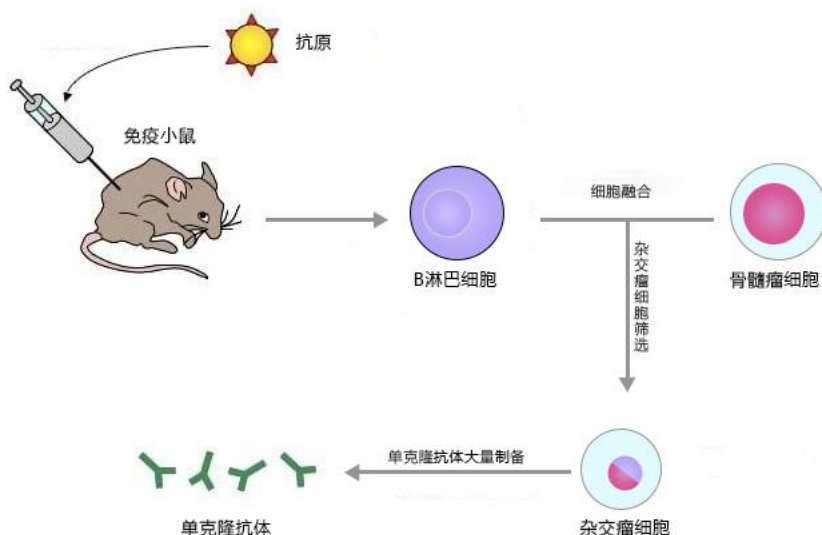


图 1：杂交瘤制备单克隆抗体流程

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。

更多优质服务推荐

1

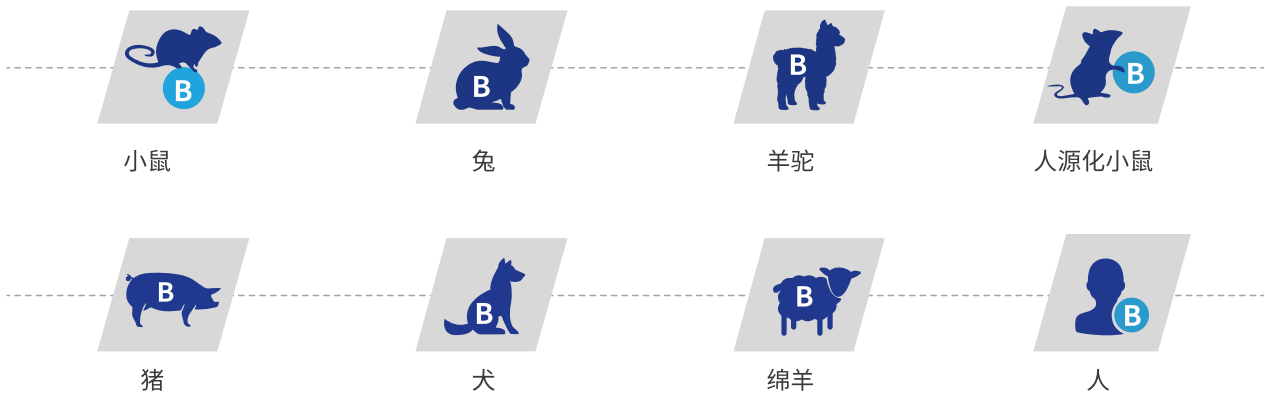
SingleB® mAb Discovery Service SingleB®单B细胞快速单抗发现

德泰生物提供SingleB®单B细胞快速单抗发现服务,利用SmartFlow® FACS记忆B细胞筛选平台与DeepLight®浆细胞筛选平台,实现记忆B细胞与浆细胞的双筛选。平台适用于小鼠、兔、羊驼、人源化小鼠、绵羊等多种免疫对象,从动物免疫到获得单抗,快至29天,比传统杂交瘤技术至少节省120天。

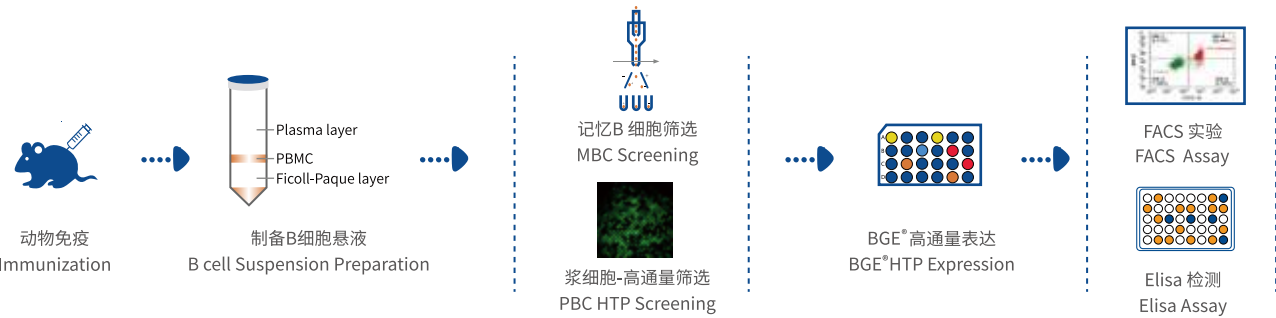
平台优势

 支持蛋白、多肽、细胞、病毒等多种类型抗原免疫	 记忆B细胞 & 浆细胞双筛选,保证B细胞多样性
 单细胞扩增阳性率高,无需刺激培养,减少多样性损失	 重轻链天然配对,亲和力更优
 高通量,周期短,单抗发现快至29天	 ELISA、FACS、WB、IHC等多平台验证

可开发单抗物种



服务流程





Recombinant Antibody Expression Service

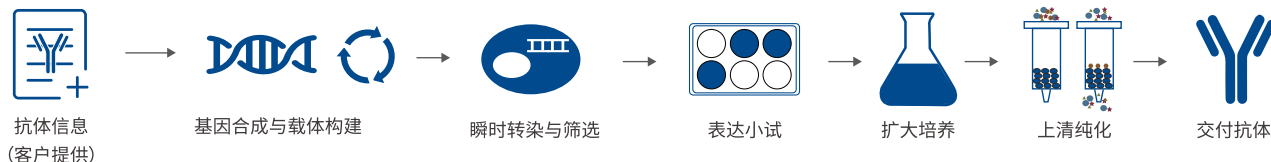
重组抗体表达

德泰生物拥有完善的重组抗体表达与纯化体系、抗体多工艺质量验证体系。已交付的重组抗体项目种类包括scFv、Fab、 $(\text{Fab}')_2$ 、VHH、嵌合抗体、双特异性抗体、Fc融合蛋白、全长IgG、IgM。cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器用于HEK293/CHO细胞的小试及大量培养。HPLC纯度、内毒素、浓度等要求均可以根据您的下游应用进行定制。

服务优势



服务流程

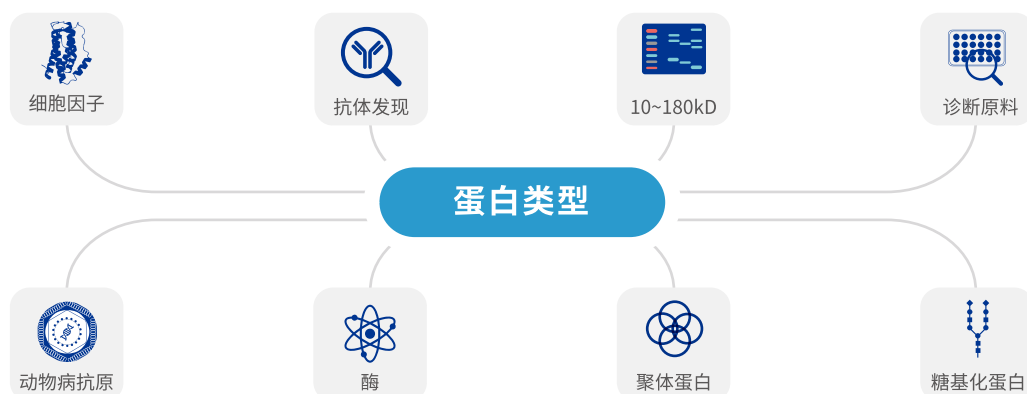


Recombinant Protein Expression Service

重组蛋白表达

原核蛋白表达系统、哺乳动物细胞蛋白表达系统

德泰生物拥有完善的原核蛋白表达与纯化体系和哺乳动物细胞蛋白表达与纯化体系。基于细胞因子、酶、诊断原料蛋白的工业化需求，我们配备了发酵设备并推出了大规模发酵制备服务；我们还配备了cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器，用于HEK293/CHO等真核细胞的小试及大量培养。



4 Hybridoma Antibody Gene Sequencing Service

杂交瘤抗体基因测序

德泰生物拥有mRNA全长测序平台和Failsafe®假基因排除技术,能够提供快速、可靠的杂交瘤抗体基因测序服务。

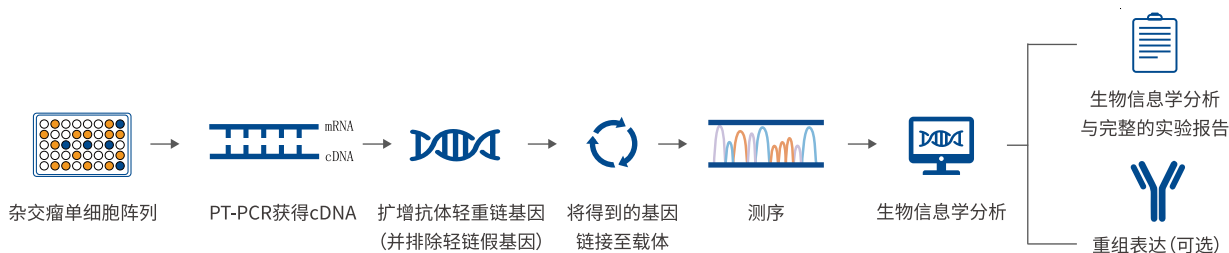
应用场景

- 抗体序列保护:获取抗体基因序列后可通过专利对CDR区进行保护。
- 生产方式备份:杂交瘤存在退化转阴风险,抗体序列可通过基因工程方式轻松转化为抗体样品。
- 抗体工程改造:获得的抗体序列可用于抗体人源化、双特异性抗体等抗体工程改造。

服务优势

- 极速体验:测序5天,表达5天,全程高通量
- 细胞需求少:只需1~5个细胞,可以接收孔板样品
- 保证测序结果准确:采用Failsafe®假基因排除技术,可排除k轻链假基因
- 测序范围广:可测小鼠、大鼠、兔、羊等物种的IgM和IgG的所有亚型
- 一站式服务:德泰生物拥有丰富经验,可提供表达验证服务

服务流程

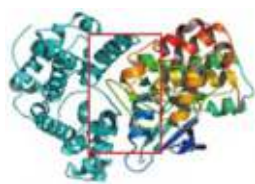


5 Biomolecular Interaction Analysis Service

分子间相互作用检测

德泰生物提供的分子间相互作用检测服务基于表面等离子共振 (SPR) 平台及生物膜干涉技术 (BLI) 平台,能够实现对分子间亲和力的定量和定性分析。与传统的GST pull down, 免疫共沉淀, 酵母双杂交等相比, 具有更高的灵敏度、检测通量及较低的样品要求等优点。

检测范围



蛋白和蛋白



蛋白和小分子



蛋白和抗体



蛋白和抗体Fab片段

检测范围包括蛋白-蛋白、抗体-抗原、抗体片段-抗原、蛋白-抗体、蛋白-小分子、抗体-多肽、蛋白-DNA、DNA-DNA间的相互作用。



Antibody Humanization Service

抗体人源化

德泰生物人源化改造服务基于人工智能之深度学习算法,通过构建抗体结构模型、CDR移植与回复突变、识别关键氨基酸及人源化运算,获得人源化程度高且突变能低的抗体序列。

服务优势



重链和轻链同时参与优化



改造后的抗体人源化程度>90%



人源化抗体的亲和力与初始抗体相当



可进行多物种的抗体人源化

服务流程

- 1 Antibody sequence confirmation
- 2 Human germline acceptor selection
- 3 CDR grafting
- 4 Back mutation
- 5 Mutation energy ranking
- 6 Antibody expression
- 7 Affinity ranking



Stable Cell Line Development Service

生产型稳转细胞株构建

德泰生物提供高表达哺乳动物稳定细胞株构建服务,筛选过程使用先进的可视化DeepLight®单克隆细胞筛选平台,较传统筛选流程快近100天,大大缩短了稳定细胞株的开发周期。

DeepLight®细胞筛选平台的优势

	有限稀释法筛选	DeepLight® On-chip筛选
筛选时间	8周	1天
细胞分离效率	低	高
筛选通量	低	高
单细胞水平筛选	否	是

服务流程



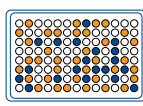
基因合成&质粒抽提



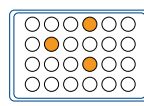
稳定转染



On-chip筛选



压力筛选



扩大培养



交付单克隆细胞株

服务优势



更快的筛选速度

从DNA到细胞株
较传统方法快近100天



百k级筛选通量

一次筛选640k细胞
优选高表达细胞株



可视化筛选结果

先进DeepLight®平台
高表达细胞株实时成像



稳定高产

可稳定转代50代
重组单抗可达5 g/L