

HAT Media Supplement, 50 X

Catalogue #: CC031
Storage: -20 °C
Size: 10mL

产品简介:

单克隆抗体生产的关键步骤是获得杂交瘤细胞 (hybridoma 或者 cell hybrids)，杂交瘤细胞是骨髓瘤细胞和小鼠脾细胞融合得到的，融合后杂交瘤细胞的筛选在添加有 HAT 的培养基中进行。HAT 添加剂中氨基蝶呤 (Aminopterin) 通过抑制二氢叶酸还原酶 3 (dihydrofolate reductase 3) 的活性进而阻断 DNA 的合成，不能利用补救途径 (salvage pathway) 合成核苷酸的细胞其生长被限制。在添加次黄嘌呤 (hypoxanthine) 和胸苷 (thymidine) 的培养基中，有能力合成次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶 (hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HPRTase)) 和胸苷激酶 (thymidine kinase (TK)) 的细胞能够利用补救途径合成核苷酸。因此添加有 HAT 的细胞培养基能够有选择性地抑制未融合的骨髓瘤细胞或者同种细胞融合形成的杂交细胞生长，HPRTase 阳性的原代脾细胞由于不能在体外培养环境中长期生存随着细胞的传代逐渐被淘汰。只有同时具备骨髓瘤细胞的“永生化”和脾细胞 HPRTase/TK 阳性双重特征的杂交瘤细胞才能在添加有 HAT 的培养基中生长。筛选过程通常延续 10—14 周，随后细胞转移到添加有 hypoxanthine 和 thymidine 但不含 aminopterin 添加剂 (HT) 的培养基中继续培养 2—3 周，然后转入正常杂交瘤细胞生长所需的培养基中。

“迈晨科技”提供 50X 浓缩液，使用前稀释到培养基中即可。

产品组分 (培养基中的终浓度):

100 μ M hypoxanthine, 0.4 μ M aminopterin, 16 μ M thymidine.

参考文献:

1. Freshney, R. I., Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 3rd ed. (John Wiley & Sons, Inc., 1994) pp. 389-391.
2. Harlow, E. and D. Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory, 1988) p. 280.
3. Kennett, R. H., Meth. Enzymol., eds. W. B. Jakoby and I. H. Pastan (Academic Press, 1979) Vol. LVII, p. 352.

For resaech use only