PEG 诱导细胞融合试剂盒

产品简介:

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。聚乙二醇(Polyethylene glycol ,PEG)有众多品种，常见的有 PEG400、PEG1500、PEG4000、PEG6000、PEG8000 等，聚乙二醇系列产品无毒、无刺激性，味微苦，具有良好的水溶性，并与许多有机物组份有良好的相溶性，具有优良的润滑性、保湿性、分散性、粘接剂、抗静电剂及柔软剂等，在化妆品、制药、化纤、橡胶、塑料、造纸、油漆、电镀、农药、金属加工及食品加工等行业中均有着极为广泛的应用；其中 PEG4000 和 PEG6000 常用于促进细胞融合或原生质体融合并有助于生物体(如酵母菌)在转化中摄入 DNA。

PEG 诱导细胞融合试剂盒主要由 PEG 诱导溶液、HAT Media Supplement组成，其作用原理使能够改变各类细胞的膜结构，使两细胞接触点处质膜的脂类分子发生疏散和重组，两细胞接口处在双分子层质膜的相互亲和以及彼此的表面张力作用下，细胞发生融合，获得生产单克隆抗体的杂交瘤细胞，诱导细胞杂交。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCCC0411 50T	Storage
试剂(A): PEG 诱导溶液	100ml	4℃
试剂(B): HAT Media Supplement(50×)	10ml	-20℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 MEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶消化液

2、 CO_2 培养箱、离心机

操作步骤(仅供参考):

1、 如果变成胶冻状，可 37~60℃水浴使其变成溶液。

2、 单层贴壁细胞：将杂交前体细胞以相同数量(5×10^4/ml)接种，以适当的培养基培养细胞，待细胞贴壁扩展至汇合成片(80%汇合率)的密度，吸干培养液，加入 2ml PEG 诱导溶液，

轻轻转动 1min 使 PEG 诱导溶液覆盖所有细胞，静置 1min，加入 5ml 完全 MEM 培养液以稀释 PEG 诱导溶液，吸干净稀释的 PEG 诱导溶液，再用 5ml MEM 培养液洗涤被 PEG 处理的细胞，吸干净洗液，加入 5ml MEM 培养液，37℃ 5%CO_2培养过夜。24~48h 后先吸去培养液，加入胰酶消化液处理细胞，待细胞消化后吸除胰酶消化液，用 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)培养剔除 HPRT 和 TK 缺陷细胞，融合 12~24h 后进行异核体分析，杂交前体细胞在 4~5 天内发生死亡，对于大多数融合前体细胞而言，10~14 天可见杂交细胞克隆。

3、悬浮细胞：将两种不同亲体的细胞各 1ml(约为 1×10^7)混匀，800g 离心 10min 以沉淀杂交前体细胞，弃上清液，使之剩余约 1ml，手指轻弹管底或手摇离心管使两种细胞混匀并重新悬浮，在离心管中加入 1ml PEG 诱导溶液，置于 37℃水浴 2min，加入 5ml 提前 37℃预热的含 10%胎牛血清的 MEM 培养液，使 PEG1000 稀释并停止作用，1000g 离心 5min，弃上清液，加入 5ml 完全 MEM 培养液以稀释 PEG 诱导溶液，吸干净稀释的 PEG 诱导溶液，用 5ml 无血清 MEM 培养液，手摇离心管重悬细胞(不要破坏细胞)，1000g 离心 5min，弃上清液，重复 1 次该步骤，加入含有 20%的胎牛血清的 HAT 选择培养液，混匀，将细胞悬液用培养液稀释至 5×10^4/ml，接种于 96 孔板(每孔 0.1ml)或其他器皿中，37℃ 5%CO_2孵育过夜 24~48h 后选出融合细胞。

注意事项：

1、应注意无菌操作，避免被微生物污染。
2、PEG 诱导溶液较为粘稠时，可 37~60℃水浴使其变成溶液。
3、体外培养的单层贴壁细胞或悬浮细胞均可做融合，但成功概率较大的是单层贴壁细胞。
4、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCA0075	青霉素-链霉素混合溶液(100×双抗)
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDM0002	姬姆萨染色液(Giemsa Stain,1:9)
GCPW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)