

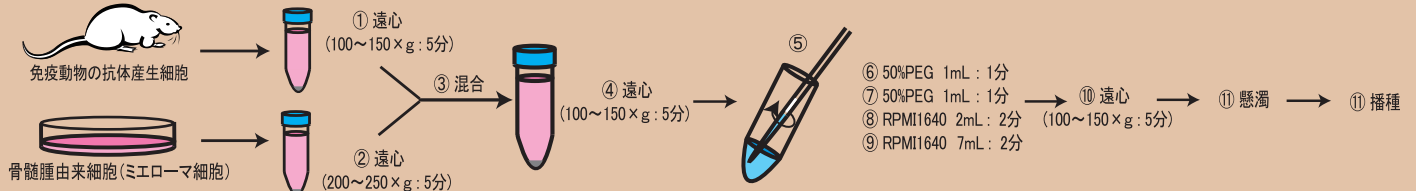
# モノクローナル抗体作製 関連製品

# ハイブリドーマとモノクローナル抗体の作製

無限の増殖能を持つ骨髄腫由来細胞（ミエローマ細胞）と抗体産生細胞を細胞融合させ作製したハイブリドーマは、無限増殖能を持つためモノクローナル抗体を比較的簡単に、かつ大量に作製することができます。

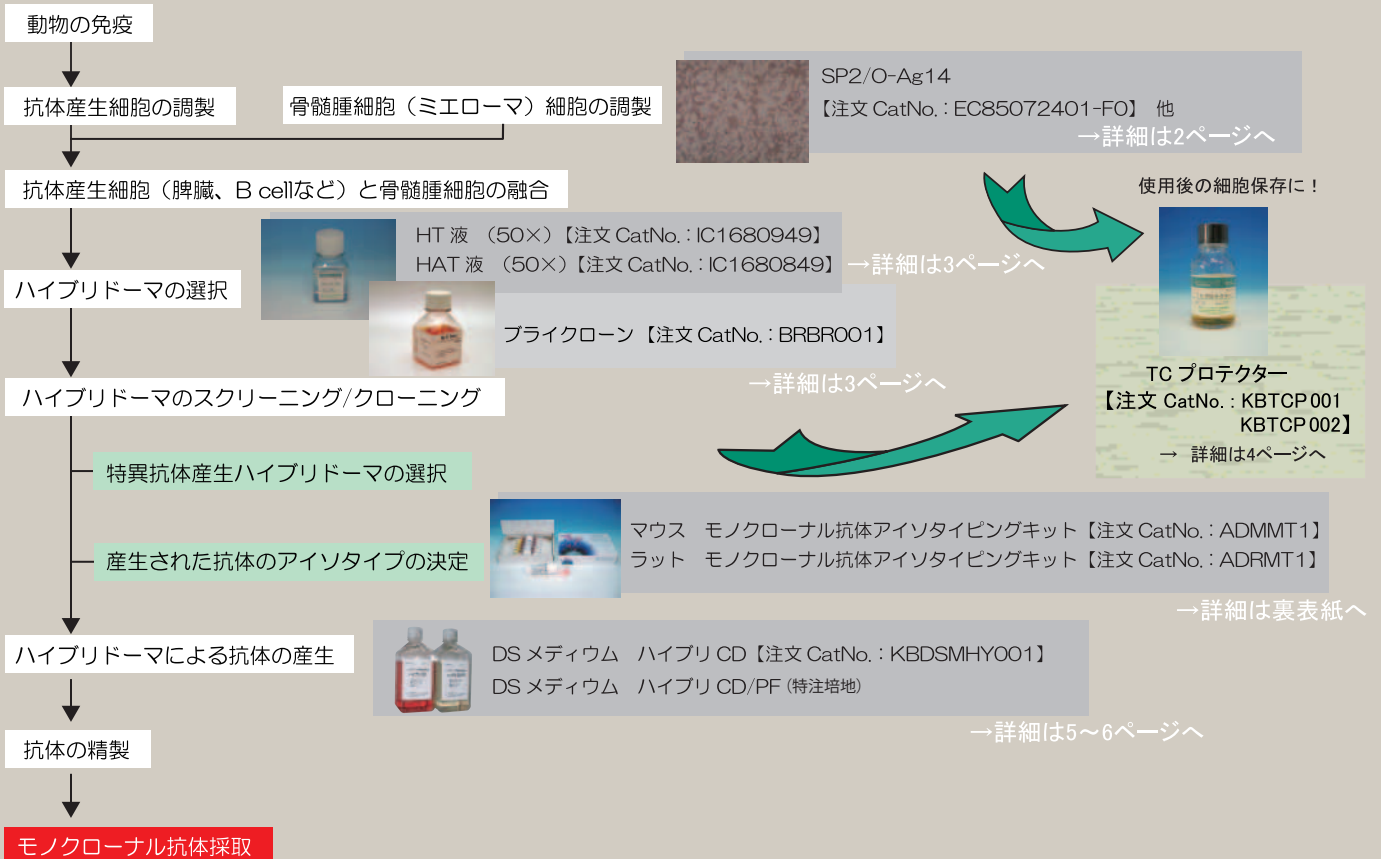
ハイブリドーマを用いたモノクローナル抗体の作製は次のような方法で行います。動物に免疫して得られた抗体産生細胞は非常に増殖力が弱く、無限に増殖させることができないため、モノクローナル抗体を大量に産生させるためには、増殖力が強く、無限に増殖できる細胞株と融合させる必要があります。この時に利用される細胞が骨髄腫由来細胞（ミエローマ細胞）です。

## ■細胞融合



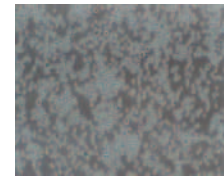
- ①抗体産生細胞を回収し、RPMI1640で3回程度遠心し洗浄する。
- ②骨髄腫細胞を回収し、RPMI1640で3回程度遠心し洗浄する。
- ③抗体産生細胞、骨髄腫細胞を1:1~1:10程度となるようにチューブ内で混合し、RPMI1640に浮遊させる。
- ④チューブ内で攪拌し、5分間遠心する。
- ⑤上清を吸引除去し、チューブを指ではじいて細胞のペレットをよくほぐす。
- ⑥50%ポリエチレングリコール(PEG)溶液1mLをゆっくりとかき混ぜながら1分間かけて添加する。
- ⑦さらに1mL 加え、1分間かき混ぜる。
- ⑧RPMI 1640 2mLをゆっくりとかき混ぜながら2分間かけて添加する。
- ⑨さらにRPMI 1640 7mLをゆっくりと2分間かけかき混ぜながら添加する。
- ⑩100 ~ 150 × gで5分間遠心し、上清を吸引除去する。
- ⑪HAT培地を加え、細胞濃度が $5 \times 10^6$  cells/mLとなるように調製し、0.1mL/wellずつ96wellプレートに播種する。
- ⑫CO<sub>2</sub>インキュベーター内で培養する。

## 抗体作製までの流れ



## 骨髓腫由来細胞 (ミエローマ細胞)

ECACC (European Collection of Cell Culture) は、英国に拠点を置く欧州最大の細胞バンクです。当社は、ECACCの国内唯一の代理店として、厳格な基準のもと品質を保証されたECACC標準株細胞を凍結バイアルのまま輸入し、凍結バイアルのままご提供いたします。



発送形態	略号	容器	細胞数
	1vial (凍結状態)	プラスチック製凍結バイアル (1mL)	1 × 10 <sup>6</sup> cells/vial

注文 CatNo.	(メカ-CatNo.)	細胞名	由来	容量	保存温度	価格 (税別:円)
EC90110506-F0	90110506	45.6.TG1.7	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	105,000
Derived from a female BALB/c myeloma tumor MPC-11. The parental cell line has mutated during growth in 6-thioguanine to establish the drug resistant line 45.6.TG1.7. This line is HPRT negative and produces mouse IgG2b kappa immunoglobulins.						
EC91031103-F0	91031103	MPC-11	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	105,000
Established from the Merwin plasma cell tumor-II carried in BALB/c mice. Resembles the parent tumor in that they both produce fully assembled gamma globulin molecules (IgG2b) as well as half molecules, light chain dimers and free light chains. The MPC-11 produces 5-6 picograms of IgG2b per cell per minute						
EC85110503-F0	85110503	NS0	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	113,000
NS0 is a non-Ig secreting, non-light chain-synthesising subclone of NS-1 (P3/NS1/1-Ag4-1 catalogue no. EC85011427). The cells are resistant to 10 μM azaguanine, cells die in the presence of HAT medium. The NS0 cell line is the property of the Medical Research Council (MRC). ECACC is unable to supply this cell line to commercial entities unless a license has been first secured from MRC Technology. Requests for commercial use of this cell line will be forwarded to MRC Technology. ※細胞供給に手続きが必要な細胞です。						
EC06020202-F0	06020202	NS0-Turbodoma	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	120,000
NS0 cell line (catalogue no. EC85110503) adapted to grow in the chemically defined protein- and peptide-free medium Turbodoma (Cell Culture Technologies). Cholesterol is not required as a supplement for this culture. This cell line is suitable for use as a fusion parent for serum-free generation of hybridomas. The NS0 cell line is the property of the Medical Research Council (MRC). ECACC is unable to supply this cell line or derivatives of this cell line to commercial entities unless a license has been first secured from MRC Technology. Requests for commercial use of this cell line will be forwarded to MRC Technology.						
EC85011427-F0	85011427	P3/NS1/1-Ag4.1	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	120,000
P3/NS1/1-Ag4-1 is a non-Ig-secreting but Kappa light chain synthesising subclone of P3X27. Resistant to 20 μg/mL azaguanine and does not grow in selective medium.						
EC85011417-F0	85011417	P3U1	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	120,000
Derivative of P3X63Ag8, known as the Kearney line, the cell line is a non secretor. HGPRT- and HAT sensitive. It is useful for fusion with spleen cells to produce hybridomas or for hybridisation studies with other myelomas or lymphomas.						
EC85011401-F0	85011401	P3X63Ag8	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	105,000
Derived from the P3X27 cell line, itself a derivative of mineral oil-induced plasmacytoma MOPC-21 in BALB/c mice. Resistant to 20 μg/mL azaguanine, does not grow in selective medium. HGPRT neg., dies in HAT. Doubling time 16-26h.						
EC85011420-F0	85011420	P3X63Ag8.653	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	95,000
P3X63Ag8.653 is a non-Ig-secreting or synthesising subclone of P3X63.Ag8. Comparable to other myeloma lines used for fusions relating to growth properties, fusion frequency and stability of resulting hybrids.						
EC03092502-F0	03092502	P3X63Ag8.653-TurboDoma	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	120,000
P3X63Ag8.653 cell line (catalogue no. EC85011420) adapted to grow in the chemically defined protein- and peptide-free medium TurboDoma (Cell Culture Technologies). Suitable for use as a fusion parent for serum-free generation of hybridomas.						
EC94120802-F0	94120802	P3X63Ag8U.1	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	105,000
P3x63Ag8U.1 is a derivative of the P3x63Ag8 cell line (catalogue no. EC85011401) from the mouse myeloma MOPC21, which was derived from a female BALB/c mouse. This variant no longer synthesises gamma-1 chains but still produces kappa light chains which are not secreted.						
EC85072401-F0	85072401	SP2/0-Ag14	マウス (Balb/c)	1vial	液体窒素	95,000
Sp2/0-Ag14 is a non-Ig-secreting or synthesising line derived from a cell line created by fusing a BALB/c mouse spleen cell and the mouse myeloma P3X63Ag8. Resistant to 8-azaguanine at 20ug/mL and does not survive in HAT containing media.						
EC85110502-F0	85110502	Y3.AG.1.2.3	ラット (LOU系)	1vial	液体窒素	105,000
Sub-cloned from an azaguanine-resistant mutant of the Lou rat myeloma, S210. The cells secrete IgG kappa light chains.						
EC85110501-F0	85110501	YO	ラット (LOU系)	1vial	液体窒素	113,000
The full designation of this line is YB2/3.0Ag30. YO was derived from a hybrid myeloma YB2/3HL by cloning in soft agar to select a non-secreting sub-population. The cells are azaguanine resistant and do not secrete IgG.						
EC88022409-F0	88022409	HTK-	ヒト	1vial	液体窒素	120,000
The cells are rendered TK- by selection with 50 μg/mL BUdR.						
EC87012702-F0	87012702	RPMI 8226	ヒト	1vial	液体窒素	95,000
Derived from the peripheral blood of a 61 year old male with multiple myeloma. The cells produce and secrete Ig lambda light chain.						
EC85051003-F0	85051003	U266B1	ヒト	1vial	液体窒素	113,000
This cell line was derived from peripheral blood of a patient with an IgE myeloma (epsilon2,lambda2). The line has been reported to secrete IgE and is used as fusion partner for the production of hybridomas. U266B1 has been reported to produce interleukin-6 (IL-6).						
EC90012609-F0	90012609	HF2x653	ヒト×マウス	1vial	液体窒素	120,000
Generated by electro-acoustic fusion of 2 lines. Parent: WI-L2-729-HF2. Murine myeloma: P3X63/Ag8.653. Non-immunoglobulin secreting, HAT-sensitive, resistant to ouabain at greater than 100uM, will fuse with normal human lymphocytes and lymphoblastoids.						
EC89101606-F0	89101606	K6H6/B5	ヒト×マウス	1vial	液体窒素	105,000
Derived by a fusion of NS-1-Ag4 myeloma cells with cells from a human nodular lymphoma. The cells are HPRT- and do not secrete immunoglobulin. They are used as a fusion partner for human B lymphocytes.						

## HAT液・HT液

### ■ 特長

- ・ 国産の高品質培地を安定に供給できます。
- ・ ISO13485 認証工場で製造しています。
- ・ 試験成績書を添付してお送りします。



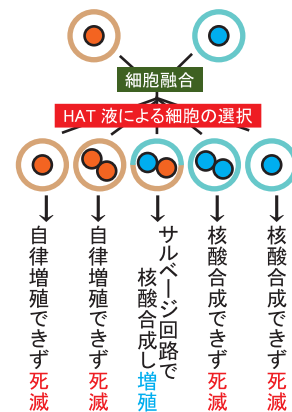
### 抗体産生細胞

- ・ 自律増殖能 (-)
- ・ 抗体産生能 (+)
- ・ HGPRT (+)
- ・ de novo 回路 (+)
- ・ サルベージ回路 (+)

### ミエローマ細胞

- ・ 自律増殖能 (+)
- ・ 抗体産生能 (-)
- ・ HGPRT (-)
- ・ de novo 回路 (+)
- ・ サルベージ回路 (-)

ヌクレオチドを合成する経路には、de novo 回路とTK、HGPRT という酵素を利用して合成するサルベージ回路という2つの回路があり、細胞が増殖するためには少なくとも一方の回路が正常に働いている必要があります。HAT 培地の成分であるアミノプテリン (A) は de novo 回路の補酵素に拮抗し核酸の合成を阻害し、また、ヒポキサンチン (H)、チミジン (T) は、サルベージ経路の HGPRT、TK という酵素を利用して核酸を合成するための前駆物質です。ハイブリドーマを作製するためには、まず、抗体産生細胞とTKもしくはHGPRTを欠損させたミエローマ細胞をPEGを利用して細胞融合させます。次に融合操作後の細胞群をHAT培地中で培養すると、抗体産生細胞、及び抗体産生細胞同士の融合細胞は自己増殖能がないために死滅し、TKもしくはHGPRTを有さないミエローマ細胞及びミエローマ細胞同士の融合細胞もヌクレオチドが合成できずに死滅してしまいます。しかし、抗体産生細胞とミエローマ細胞の融合細胞は、アミノプテリンによりde novo回路が阻害されても、抗体産生細胞から付与されたHGPRTを利用しサルベージ回路でヌクレオチド合成可能となりHAT培地中で増殖することができます。このような原理でHAT培地を用いてハイブリドーマのみを選択培養します。



注文CatNo.	(メーカーCatNo.)	品名	容量	保存温度	価格 (税別:円)
IC1680949	16-809-49	HT液 (50×)	100mL×2	-20℃	10,000
IC1680849	16-808-49	HAT液 (50×)	100mL×2	-20℃	12,000

## ハイブリドーマ作製用添加試薬 BriClone (ブライクローン)

たった  
5%の添加!

本製品は、National Institute for Cellular Biotechnologyが開発したIL-6 (ハイブリドーマ増殖因子) 産生細胞 (D-MEM + 5%FBSで培養) の培養上清で、IL-6を豊富に含んだハイブリドーマ作製用の添加試薬です。



### ■ 組成

FBS	5%
HEPES	50mM
L-Glutamine	2mM
NaHCO <sub>3</sub>	3.7mg/mL
Penicillin	50 IU/mL
IL-6	0.7ng/mL
Streptomycin	50 μg/mL

### ■ 特長

- ・ Feeder Cellを使用せずにハイブリドーマの作製ができます。
- ・ ハイブリドーマの増殖を促進します。
- ・ ハイブリドーマの抗体産生量が増加します。
- ・ 本試薬5% (v/v) 添加で良好な結果が得られ、経済的です。

10mL サンプル提供中!

ハイブリドーマの作製には一般的に約6ヶ月という長期間を要します。その中でも最も労力を要するのがハイブリドーマのクローニングです。

細胞融合直後のハイブリドーマは増殖性が悪いため、マウス脾細胞をFeeder Cellとして添加する必要があり、動物解剖の手間が頻りに発生するばかりでなく、調整したFeeder Cellも生体由来するため、その性能にはバラツキが生じる可能性などがありました。

本製品は、National Institute for Cellular Biotechnologyの研究者が自己の研究を促進させるために種々検討した集大成であり、本製品を使用することでハイブリドーマのクローニングなどをFeeder Cellを用いることなく簡便に行うことができる試薬です。

注文CatNo.	(メーカーCatNo.)	品名	容量	保存温度	価格 (税別:円)
BRBR001	BR-001	ブライクローン	100mL (滅菌済み)	-20℃	41,000

## 関連試薬

免疫実験用ブロッキング剤

# ブロックエース粉末

4g 包装 サンプル提供中!

疎水基を多く含む乳タンパク質から調製しているためプラスチック、メンブランフィルターなどに高い親和性を示します。そのため BSA (ウシ血清アルブミン) などに比べ、ELISA、RIA、イムノブロットング法における抗原や抗体の非特異的吸着に優れたブロッキング効果を発揮します。また、サンプルや抗体の希釈にもご利用いただけます。

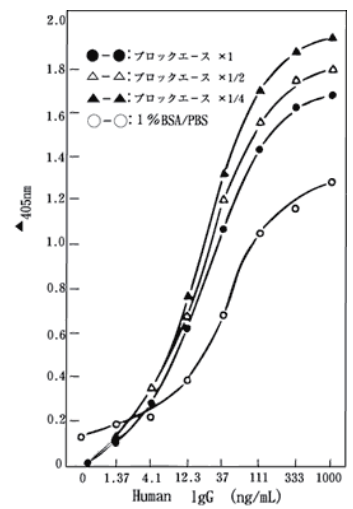
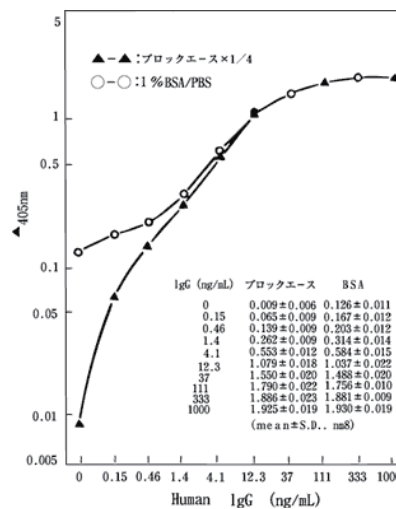


### ■ 特長

- ・ 水に溶けやすく、取り扱いが簡単です。
- ・ 加熱処理されており、ウシ由来抗体、酵素、ウィルスなどのタンパク成分は不活化されています。
- ・ ブロッキング剤として品質管理試験を行っており、ロット間再現性も良好です。

### 1%BSA 溶液とのブロッキング効果の比較

抗ヒトカッパ鎖抗体、抗ヒトラムダ鎖抗体をコートし、ブロックエースまたは 1%BSA でブロッキングした後、ヒト IgG 検出を ELISA 法に行うと、ブロックエースではバックグラウンドが低く、勾配の高い標準曲線が得られています。



注文CatNo.	(メーカーCatNo.)	品名	容量	保存温度	価格 (税別: 円)
UKB40	UK-B40	ブロックエース粉末	40g	室温 (輸送は冷蔵)	9,000
UKB80	UK-B80	ブロックエース粉末	4gx20	室温 (輸送は冷蔵)	19,000
UKB500	UK-B500	ブロックエース粉末	500g	室温 (輸送は冷蔵)	100,000

## 細胞凍結保護液「TC プロテクター®」

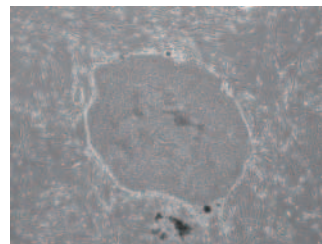
10mL サンプル提供中!

ES 細胞や成体幹細胞に加え、ヒト iPS 細胞の凍結にも最適です!

動物由来成分やタンパク質を一切含まない Chemically Defined な細胞凍結保護液です。有血清培養細胞はもちろん、無血清培養細胞や無タンパク培養細胞の凍結に有用です。

### ■ 特長

- ・ 粘性が少なく、全く泡立ちませんので操作性が抜群です。
- ・ Ready to Use (希釈せずそのまま使用可能です。)
- ・ 冷蔵保存ですので、すぐにご使用いただけます。
- ・ 直接 -80°C で凍結できます。(プログラムフリーザー不要)
- ・ 血清、タンパク質が一切不含です。
- ・ 環境にやさしいガラスボトルを使用しています。



ヒト iPS 細胞 (201B7 株) の例

注文CatNo.	(メーカーCatNo.)	品名	容量	保存温度	価格 (税別: 円)
KBTC001	TCP-001	TC プロテクター (細胞凍結保護液)	100mL	4°C	9,800
KBTC002	TCP-002	TC プロテクター MINI (細胞凍結保護液)	10mL × 10	4°C	13,000

掲載製品は全て研究用です。

## ハイブリドーマ培養用CD培地

Ready to use!

# DSメディウム ハイブリCD / ハイブリCD/PF

(特注培地)

モノクローナル抗体を産生させた培地から抗体を精製する際に、培地中に動物由来の免疫グロブリンや未知物質が含まれると精製工程が非常に煩雑になります。DSメディウム ハイブリCDおよびハイブリCD/PFは、組成が明らかなCD (Chemically-Defined) 培地ですので抗体精製が容易になるばかりではなく、血清添加培地と遜色のない細胞増殖能と抗体産生能を実現しました。

## ■ 特長

**抗体精製が容易**：動物成分や高分子を含みません

**低分子で構成**：ハイブリCDは分子量6,000以下(インスリンを含む)  
ハイブリCD/PFは分子量1,200以下

**馴化操作が不要**：ハイブリCD培地。ハイブリCD/PFは約1週間で可能

**低密度培養が可能**： $1 \sim 2 \times 10^4$  Cells/mLでの培養が可能

1:00mLサンプル提供中!!

**抗体精製が容易になります!**



	ハイブリCD	ハイブリCD/PF
Chemically Defined	○	○
無蛋白	×*	○
フェノールレッド	含	不含
界面活性剤	不含	不含
馴化培養	不要	必要
低密度培養	可	可

\*:リコンビナント蛋白質(インスリン)を含む

**血清添加培地と遜色のない細胞増殖性と抗体産生能を実現!**  
データは次ページに。

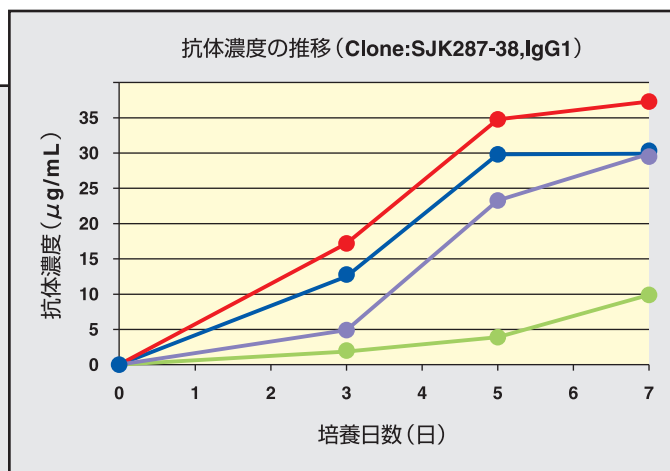
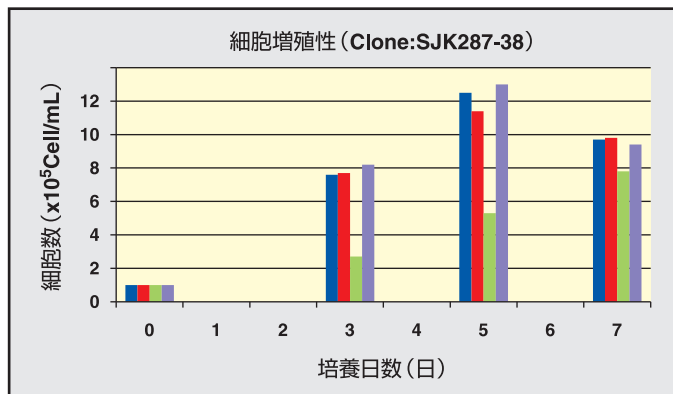
注文CatNo.	(メーカーCatNo.)	品名	容量	保存温度	価格 (税別:円)
KBDSMHY001	DSM-HY001	DSメディウム ハイブリCD	1L	4℃	13,000

特別包装形態も可能ですので、お問い合わせください。

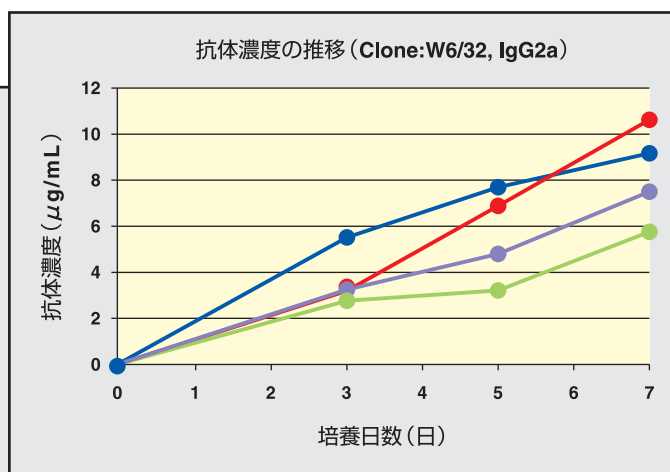
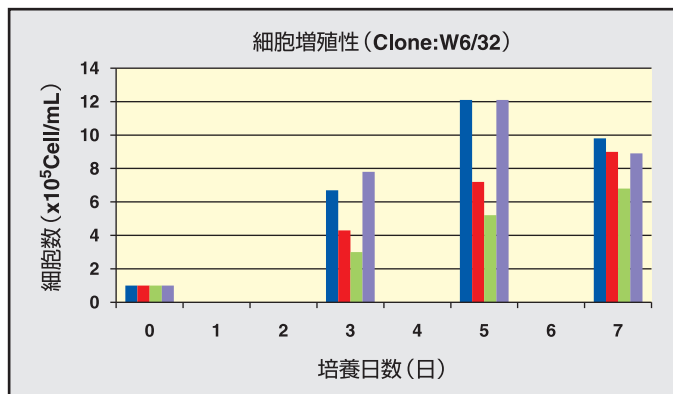
掲載製品は全て研究用です。

# ハイブリ CD およびハイブリ CD/PF 培地での 細胞増殖性と抗体産生能

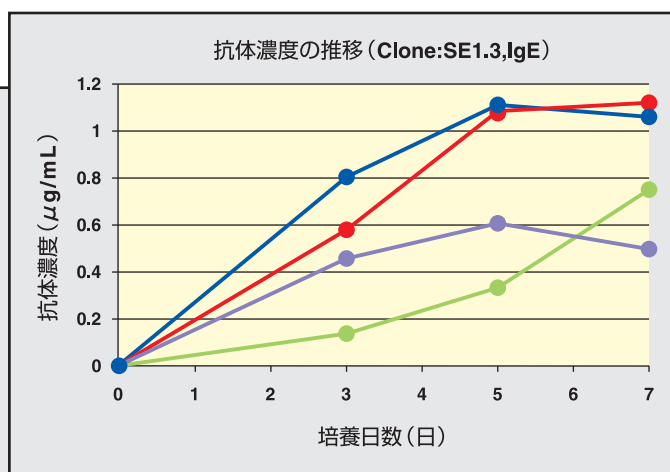
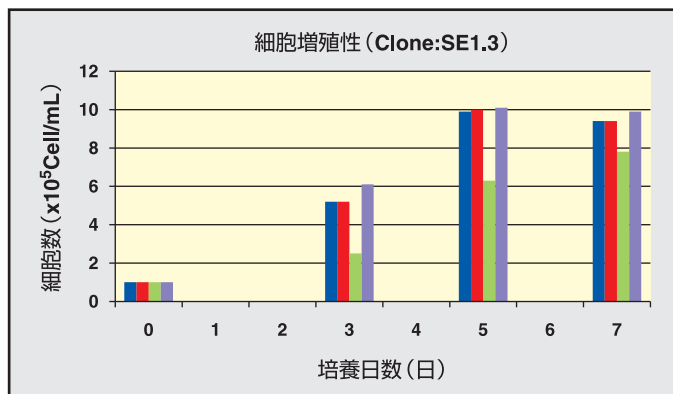
## Clone:SJK287-38



## Clone:W6/32



## Clone:SE1.3



増殖性の異なる3種のハイブリドーマを用いた培地の違いによる増殖性と抗体産生能の比較 (社内データ)

細胞を各種培地で馴化後、 $1 \times 10^5$  cells/mLの密度で播種した結果、いずれのハイブリドーマも従来のD-MEM+10%FBS培地や他社CD培地と比較して、ハイブリCD培地およびハイブリCD/PF培地 (特注培地)の細胞増殖性および抗体産生量は同等かそれ以上を示しました。

- : ハイブリCD培地
- : ハイブリCD/PF培地
- : 他社CD培地
- : D-MEM+10%FBS

マウス  
ラット

# モノクローナル抗体アイソタイピングキット



モノクローナル抗体は、ハイブリドーマから得られた抗体（免疫グロブリン）であり、そのアイソタイプを早期に同定することはいろいろな意味で重要です。

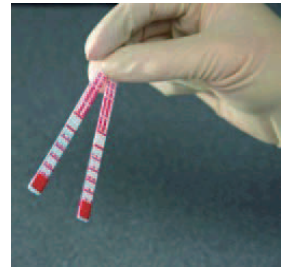
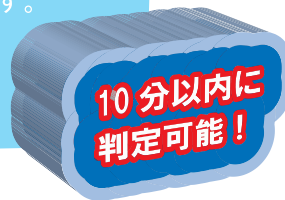
抗体は、定常領域の構造の違いによりいくつかのアイソタイプに分けられ、多くの哺乳類では、IgG、IgA、IgM、IgD、IgE の5種類の免疫グロブリンに分類されます。それぞれのクラスの免疫グロブリンは大きさや生理活性が異なり、例えば IgA は粘膜分泌型の分子であり、IgE は肥満細胞に結合してアレルギー反応を引き起こします。さらにヒトの場合、IgG には IgG1 ~ IgG4 の4つのサブクラスが、IgA には IgA1 と IgA2 の2つのサブクラスがあり、それぞれ少しずつ構造が異なっています。IgM、IgD、IgE にはサブクラスはありません。

このように、使用目的によりアイソタイプを選別することは、採取した検体の情報を得る上で重要なポイントです。

本キットは、迅速かつ簡便にしかも正確にアイソタイプを決定する試薬です。

## 特長

- ・ディップスティックによる検出のため、機器は一切不要です。
- ・腹水、培養上清液を試料にできます。
- ・試料1 μg/mL、150 μL で培養初期から検出できます。
- ・実験記録として保存できます。



## マウス モノクローナル抗体アイソタイピングキット

- マウス：IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgA、L鎖のκ・λを検出できます。

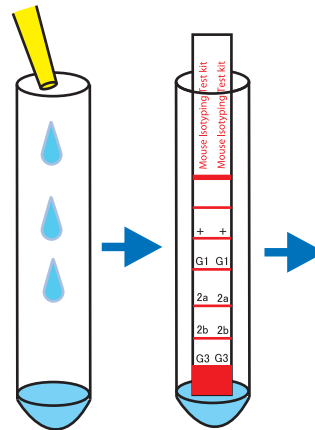
## ラット モノクローナル抗体アイソタイピングキット

- ラット：IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG2c、IgM、IgA、L鎖のκを検出できます。  
(κ鎖が検出されない時はλ鎖です。)

表	裏
Mouse Isotyping Test kit	Mouse Isotyping Test kit
+	+
G1 G1	A A
2a 2a	M M
2b 2b	λ λ
G3 G3	κ κ

## 操作方法（両キット共通）

- ① 1%BSA を含む PBS でモノクローナル抗体試料の濃度を 1.0 μg/mL に希釈する。（参考 IgG 濃度：血清 10 ~ 15mg/mL、腹水 10mg/mL、細胞培養上清 0.01 ~ 0.5mg/mL）
- ② 希釈した試料 150 μL を展開チューブに分注し、室温で30秒後、軽く攪拌する。  
(試料モノクローナル抗体と微粒子結合抗体の結合)
- ③ 展開チューブに、ストリップの赤い端をサンプルに浸す。  
(試料と微粒子結合抗体複合物の移動及びストリップ上の抗体との反応)
- ④ 10分以内に青い陽性コントロールバンドが現れたら、各クラスあるいはサブクラス及びκあるいはλ鎖を判定する。



注文CatNo.	(メーカーCatNo.)	品名	容量	保存温度	価格 (税別：円)
ADMMT1	MMT1	マウス モノクローナル抗体アイソタイピングキット	10 テスト	4°C	お問い合わせください
ADRMT1	RMT1	ラット モノクローナル抗体アイソタイピングキット	10 テスト	4°C	お問い合わせください

- 掲載の商品は、全て研究用試薬です。人や動物の医療用 臨床診断用等には使用しないでください。
- 掲載の価格は、2012年11月1日現在の価格です。予告なしに改定される場合がありますので、ご注文の際にご確認ください。

大日本住友製薬グループ  
DSファーマバイオメディカル株式会社

〒564-0063 大阪府吹田市江坂町2丁目1番43号  
KYUHO江坂ビル8階

(お問い合わせ窓口)  
受注・発送に関するお問い合わせ  
TEL 06-6990-8051 FAX 06-6325-6058  
テクニカルサポート  
TEL 072-636-8160 FAX 072-634-7222  
URL : <http://www.dspbio.co.jp>  
メールアドレス : [dspb-ls@bio.ds-pharma.co.jp](mailto:dspb-ls@bio.ds-pharma.co.jp)