

## ハイブリドーマ用半固形培地（HAT 添加） HDO-01

80-002 90 mL

保存：-20℃で送付、-20℃で保存。

-20℃で購入日から1年間、融解後は4℃で2週間保存可能。

製品：カルボキシメチルセルロースベースの半固形培地。HAT 添加。

用途：ハイブリドーマ作製時の HAT セレクションとクローニングのための培養。

性状：E-RDF、CMC、炭酸水素ナトリウム、その他サプリメント。

使用上の注意点：1) 全ての操作は無菌的に行うこと。

2) 使用する前日に4℃で融解し、使用直前に37℃に温めて使用すること。

3) 培養中は形成したコロニーが流れないように水平を保つこと。

使用方法：1) 細胞融合後、回復培地で overnight 培養したハイブリドーマを回収して 10 mL の細胞懸濁液を調製する。細胞数は  $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$  の範囲にする。

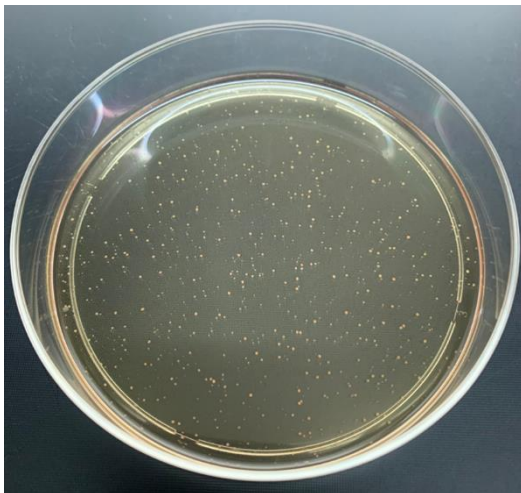
2) 90 mL の HDO-01 に 10 mL の細胞懸濁液を添加し、キャップを閉めて数回転倒攪拌する。

3) 気泡を除去するために、37℃の CO<sub>2</sub> インキュベータ内で 10 分間静置する。

4) 16G のブランド針を装着した 10mL のシリンジでハイブリドーマ懸濁 HDO-01 を 10mL 分取し、100mm 細胞培養ディッシュに気泡が入らないようにアプライする。

5) ハイブリドーマのコロニーが目視できるまで 14 日間培養する。

6) シングルコロニーを 10~20μL の培地ごとピペットで吸い取り、ハイブリドーマ培養用の培地を入れた 96 穴プレートに移して培養する。



60mm 細胞培養ディッシュで 14 日間培養した。目視でハイブリドーマのシングルコロニーが見えるようになる。

図 1. 培養 14 日目のコロニー形成の様子