

SFA-Hybrimax 10X

Supplement for Hybridoma
serum free

AC-AP-0209	20 ml
AC-AP-0210	50 ml
AC-AP-0211	100 ml
AC-AP-0212	500 ml

Lagerung: - 20 C°

Haltbarkeit: 24 Monate

Allgemeine Beschreibung:

Hybridomazellen entstehen durch die Fusion einer antikörperproduzierenden B-Zelle mit einer Tumorzelle. Für ihre erfolgreiche Entwicklung sind Wachstumsfaktoren und ein Serumzusatz von 10–20 % entscheidend, um eine optimale Zelldichte und Klonierungseffizienz zu erzielen.

Als Ergänzung zum Kulturmedium fördert unser **SFA-Hybrimax** das Wachstum von Hybridomen und bietet eine zuverlässige Alternative zu früher eingesetzten Feederzellen.

Damit entfallen typische Nachteile der Feederzellen wie Überwucherung neu gebildeter Hybridome, potenzielle Kontaminationsquellen, Konkurrenz um Nährstoffe sowie schwankende Konzentrationen an Wachstumsfaktoren.

Das **SFA-Hybrimax** kann direkt in Kulturen eingesetzt werden.

Auftauen des Hybridoma Supplements:

Das **SFA-Hybrimax** sollte vor Gebrauch aufgetaut werden. Dies kann entweder schonend über Nacht im Kühlschrank oder schneller im Wasserbad bei 37 °C erfolgen.

Während des Auftauens im Wasserbad empfiehlt es sich, das Fläschchen mehrmals vorsichtig zu schwenken.

Anwendung:

Das **SFA-Hybrimax** steigert die Anzahl an Hybridomen während der HAT-Selektion und unterstützt die Bildung antikörperproduzierender Klone.

1. **Fusion:** Führe die Fusion von Milzzellen mit Myelomazellen nach einem etablierten Protokoll durch und entferne anschließend das Polyethylenglycol durch Zentrifugation.
2. **Resuspension:** Setze die frisch fusionierten Hybridome in HAT-Selektionsmedium (z. B. IMDM oder RPMI 1640 mit 10–20 % Serum, 0,1 mM Mercaptoethanol und HAT) an. Ergänze das Medium zusätzlich mit 5–10 % **SFA-Hybrimax**. Für die Aussaat in 96-Well-Platten wird eine Zelldichte von 5×10^4 bis 5×10^5 Milzzellen/ml empfohlen.
3. **Selektion & Analyse:** Nach ca. 10 Tagen Wachstumsphase ohne Zufütterung können die entstandenen Klone mikroskopisch beobachtet und die Überstände auf Antikörperproduktion getestet werden. Antikörper-positive Hybridome lassen sich anschließend in Medium (RPMI 1640 oder IMDM mit 5–10 % **SFA-Hybrimax**) expandieren.

Klonierung von Hybridomen:

Das **SFA-Hybrimax** steigert die Klonierungseffizienz von Hybridomen und unterstützt die zuverlässige Generierung antikörperproduzierender Klone.

Protokoll (Beispiel):

1. **Vorkultur:** Kultiviere Hybridome in einem zellspezifischen Wachstumsmedium mit zusätzlich 10 % **SFA-Hybrimax**, bis eine logarithmische Wachstumsphase von ca. 5×10^5 Zellen/ml erreicht ist.
2. **Verdünnung:** Zähle die Zellen und verdünne sie im gleichen Medium mit mindestens 10–15 % Serum auf 5 Zellen/ml.
3. **Aussaat:** Verteile jeweils 0,2 ml der Zellsuspension auf jedes Well einer 96-Well-Platte.
4. **Wachstumsphase:** Lasse die Zellen 10–14 Tage ohne zusätzliche Fütterung wachsen und überprüfe anschließend die Kolonien.
5. **Screening:** Teste die Überstände von Wells mit nur einer Kolonie auf die Antikörperproduktion.
6. **Expansion:** Expandiere die positiven Hybridome in 24-Well-Platten in Hybridoma-Wachstumsmedium mit bis zu 10 % **SFA-Hybrimax**.