上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

PEG4000 溶液(50%,无菌)

简介：

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。依相对分子质量不同而性质不同，从无色无臭黏稠液体至蜡状固体，分子量 200～600 者常温下是液体，分子量在 600 以上者就逐渐变为半固体状，随着平均分子量的不同，性质也有差异，从无色无臭粘稠液体至蜡状固体。随着分子量的增大，其吸湿能力相应降低，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。

源叶生物 PEG4000 溶液(50%,无菌)主要由 PEG4000(CAS 号 25322-68-3)、磷酸盐等组成，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。PEG4000 溶液(50%,无菌)可用作融合剂，以获得生产单克隆抗体的杂交瘤细胞，诱导细胞杂交，该试剂经严格无菌处理。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

组成：

编号 / 名称	R30368			Storage
PEG4000 溶液(50%,无菌)	10ml	5×10ml	100ml	4℃
说明书	一份			

自备材料：

1、MEM 培养基、胎牛血清

2、CO_2 培养箱、离心机

3、HAT、HT、A Media Supplement

4、胰蛋白酶消化液

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 PEG4000 溶液(50%,无菌)，轻轻转动 1min 使 PEG4000 溶液覆盖所有细胞。静置 1min，加入 5ml 完全 MEM 培养液以稀释 PEG4000 溶液，吸干净稀释的 PEG4000 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 选择培养剔除 HPRT 和 TK 缺陷细胞，弃上清液，用补加 1×HT 和 1×A 的完全培养液重新悬浮细胞，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 PEG4000 溶液(50%,无菌)，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 PEG4000 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 PEG4000 溶液，吸干净稀释的 PEG4000 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、PEG4000 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。

有效期：6 个月有效。