

24-325

НА ДОМ НЕ СДАЕТСЯ

В. В. Аргентова

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ
СТАБИЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ
ЛИНИЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

24-00325



МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

В. В. Аргентова

**МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ СТАБИЛЬНЫХ
КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Учебно-методическое пособие



ИЗДАТЕЛЬСТВО
МОСКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
2023

УДК 57.086.835:599(075.8)
ББК 28.05+28.693.36.3я73
А797

Рецензенты:

Бычков Максим Леонидович — канд. биол. наук,
научный сотрудник лаборатории нейромодуляторов
и нейрорецепторов ГНЦ ФГБУН «Институт биоорганической химии
им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН

Малюченко Наталья Валерьевна — канд. биол. наук, доцент кафедры
биоинженерии биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова

Аргентова В. В.

А797 Методы получения стабильных клеточных линий млекопитающих —
Москва : Издательство Московского университета, 2023. — 40 с.

ISBN 978-5-19-011948-0

В учебно-методическом пособии изложены основные положения лекций по курсу «Генная инженерия рекомбинантных антител» и «Биотехнология рекомбинантных антител».

В пособии изложены основные методы получения стабильных клеточных линий — продуцентов рекомбинантных антител, приведены примеры определения. Дано описание необходимой лабораторной техники: клеточного сортера ClonePix и анализатора клеток CloneSelect Imager, а также методы и этапы работы на данных приборах по получению клонов-продуцентов. В пособии приведен протокол стабильной трансфекции на примере клеток CHO. Описаны принципы получения моноклональности и стабильности клеточных линий млекопитающих и дальнейшего масштабирования клеточных линий-продуцентов. Приведены примеры основных клеточных линий млекопитающих. Рассмотрены принципы криозамораживания образцов клонов. Пособие направлено на выработку навыков работы по получению стабильных клеточных линий-продуцентов рекомбинантных антител.

Предназначено для студентов МГУ, обучающихся по программе «Общая биология» по специальности биоинженерия и по программам «Биотехнология, биоэкономика и биоинженерия» и «Структурная биология, биоинженерия и биотехнология», а также может быть рекомендовано студентам естественно-научного профиля при выполнении ими ряда работ ВКР, НИР и в специализированных практикумах.

В качестве учебно-методического пособия для реализации образовательных программ высшего образования.

УДК 57.086.835:599(075.8)
ББК 28.05+28.693.36.3я73

© Аргентова В. В., 2023

© Биологический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова, 2023

ISBN 978-5-19-011948-0

© Издательство Московского университета, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	5
2. ТРАНСФЕКЦИЯ	6
2.1 Определение эффективности трансфекции	9
2.2 Качество и количество ДНК для трансфекции	9
2.3 Трансфекция с использованием липосом	10
3. СТАБИЛЬНАЯ ТРАНСФЕКЦИЯ	10
3.1 Стабильная трансфекция клеток CHO DG44	11
3.1.1 Протокол трансфекции адгезионных клеток млекопитающих	11
3.2 Селекция стабильных трансфектантов	13
3.2.1 Селективный отбор трансфектантов с использованием антибиотиков	14
3.2.2 Отбор трансфектантов на селективной среде	15
3.3 Селекция на метотрексате (MTX)	15
3.3 Метод селекции клонов с использованием метотрексата (MTX)	16
4. ОТБОР КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРИБОРА CLONEPIX FL	17
4.1 Среды, используемые в системе ClonePix FL	18
4.2 Посев клеток в полутвердую среду	19
4.3 Принципы отбора клонов-продуцентов в системе ClonePix	21
4.3.1 Определение параметров для отбора клонов-продуцентов	22
5. ПРИБОР МНОГОПАРАМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КЛЕТОК «CLONESELECT IMAGER»	24
5.1 Методы обнаружения клеток	25
5.2 Этапы работы на приборе	27
6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ КЛОНОВ	28
7. МЕТОДЫ ДОСТИЖЕНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ	29

7.1 Определение стабильности клеточных линий (клонов-продуцентов)	29
7.2 Принцип метода лимитирующих разведений	29
8. КРИОКОНСЕРВАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР	30
9. ПРИНЦИПЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	33
9.1 Культивирование в шейкер-колбах	34
9.2 Культивирование в спиннер-флаконах	35
10. СПИСОК ТЕРМИНОВ	39
11. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	39

