

动物细胞融合技术和单克隆抗体

1. 动物细胞融合

(1) 概念：动物细胞融合技术就是使_____结合形成一个细胞的技术。

(2) 诱导原理和结果

①诱导原理：_____。

②诱导结果：形成_____细胞。

(3) 诱导方法：_____法、电融合法和_____法等。

(4) 意义：突破了_____的局限，使_____成为可能。

(5) 动物细胞融合技术的应用

①成为研究_____、_____、肿瘤和培育生物新品种等的重要手段。

②用于制备_____。

2. 单克隆抗体

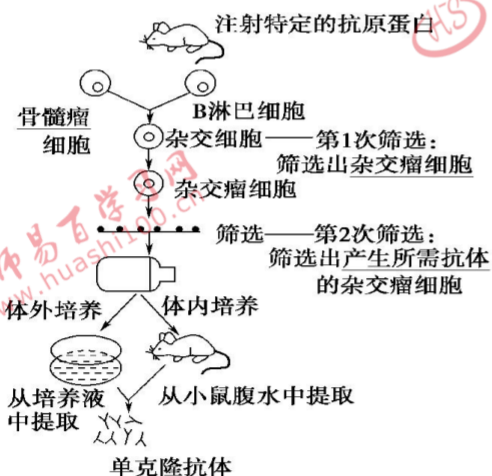
(1). 制备原理

①B 淋巴细胞特点：一种 B 淋巴细胞分泌一种特异性抗体。

②骨髓瘤细胞特点：能在体外大量_____。

③杂交瘤细胞特点：B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合得到的杂交瘤细胞，既能_____又能产生大量_____。

(2) 制备过程（如图）



(3) 单克隆抗体的优点

能准确地识别_____，与特定抗原发生特异性结合，并且可以_____。

(4) 单克隆抗体的应用

①作为_____，具有准确、高效、简易、快速的优点。

②用于_____和_____。

(5) 制备单克隆抗体过程中的两次筛选

第一次筛选	第二次筛选
诱导融合后得到多种杂交细胞，另外还有未融合的细胞	从小鼠体内提取的 B 淋巴细胞有很多种，形成的杂交瘤细胞也有很多种
用特定的选择培养基筛选：未融合的细胞和同种细胞融合后形成的细胞都会死亡，只有融合的杂交瘤细胞才能生长	用多孔培养皿培养，在每个孔只有一个杂交瘤细胞的情况下开始克隆化培养和抗体检测，经多次筛选得到能产生特异性抗体的细胞群
得到杂交瘤细胞	得到能分泌所需抗体的杂交瘤细胞

(6) 单克隆抗体制备过程的关键分析

- ①对动物免疫的原因：B 淋巴细胞要经过免疫过程，即接触抗原，增殖分化为有特异性免疫功能的 B 淋巴细胞，才能产生相应的抗体，所以，与骨髓瘤细胞融合的 B 淋巴细胞实际上是浆细胞。
- ②杂交瘤细胞具备双亲的遗传物质，不仅具有浆细胞产生特异性抗体的能力，还具有骨髓瘤细胞在体外培养条件下大量增殖的能力，从而可以克服单纯 B 淋巴细胞不能无限增殖的缺点，而大量生产单克隆抗体。

例、(2022·徐州模拟)科学家以 SARS 病毒的核衣壳蛋白为抗原，制备出了单克隆抗体。下列叙述正确的是()

- 体外培养单个 B 淋巴细胞可以获得针对 SARS 病毒的单克隆抗体
- 利用该单克隆抗体可以诊断是否感染 SARS 病毒
- 将纯化的核衣壳蛋白反复注射到小鼠体内，从小鼠血清中分离出的抗体为单克隆抗体
- 将等量 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞混合，经诱导后融合后的细胞即为杂交瘤细胞

即时练习

1. (2022·常州模拟) 抗体—药物偶联物(ADC)通过将细胞毒素类药物与单克隆抗体结合，实现了对肿瘤细胞的选择性杀伤，过程如下图所示。相关叙述正确的是()。



- ADC 进入肿瘤细胞的过程体现了细胞膜的流动性
- 抗体进入细胞后激活溶酶体酶，导致肿瘤细胞凋亡
- 单克隆抗体携带的细胞毒素能与肿瘤细胞特异性结合
- 肿瘤细胞的溶酶体中含有能特异性水解药物的酶

2. (2022 高考辽宁卷) 某抗膜蛋白治疗性抗体药物研发过程中, 需要表达 N 蛋白胞外段, 制备相应的单克隆抗体, 增加其对 N 蛋白胞外段特异性结合的能力。

N 蛋白胞外段单克隆抗体制备, 流程如图

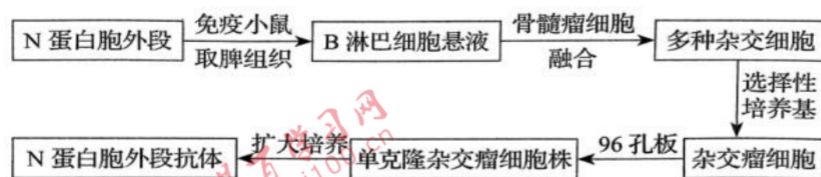


图 2

(3) 用 N 蛋白胞外段作为抗原对小鼠进行免疫后, 取小鼠脾组织用_____酶处理, 制成细胞悬液, 置于含有混合气体的_____中培养, 离心收集小鼠的 B 淋巴细胞, 与骨髓瘤细胞进行融合。

(4) 用选择性培养基对融合后的细胞进行筛选, 获得杂交瘤细胞, 将其接种到 96 孔板, 进行_____培养。用_____技术检测每孔中的抗体, 筛选既能产生 N 蛋白胞外段抗体, 又能大量增殖的单克隆杂交瘤细胞株, 经体外扩大培养, 收集_____, 提取单克隆抗体。

(5) 利用 N 蛋白胞外段抗体与药物结合, 形成_____, 实现特异性治疗。

3. (2022 高考福建卷) 美西螈具有很强的再生能力。研究表明, 美西螈的巨噬细胞在断肢再生的早期起重要作用。为研究巨噬细胞的作用机制, 科研人员制备了抗巨噬细胞表面标志蛋白 CD14 的单克隆抗体, 具体方法如下。回答下列问题:

抗 CD14 单克隆抗体的制备流程如图 2 所示:

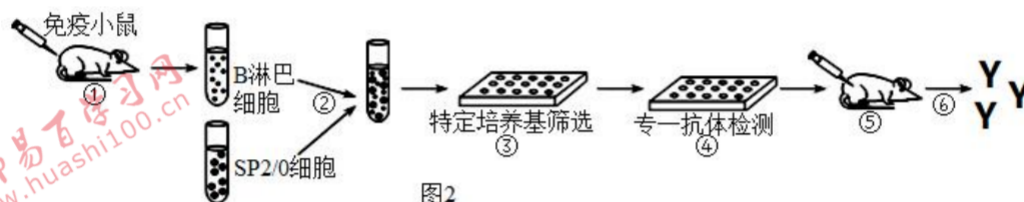


图2

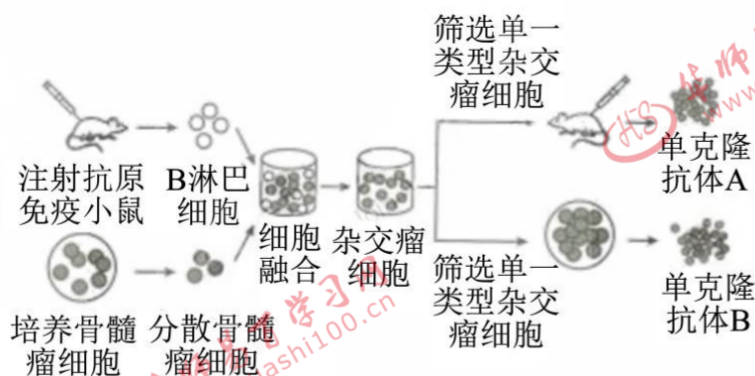
(3) 步骤①和步骤⑤分别向小鼠注射_____和_____。

(4) 步骤②所用的 SP2/0 细胞的生长特点是_____。

(5) 吸取③中的上清液到④的培养孔中, 根据抗原—抗体杂交原理, 需加入_____进行专一抗体检测, 检测过程发现有些杂交瘤细胞不能分泌抗 CD14 抗体, 原因是_____。

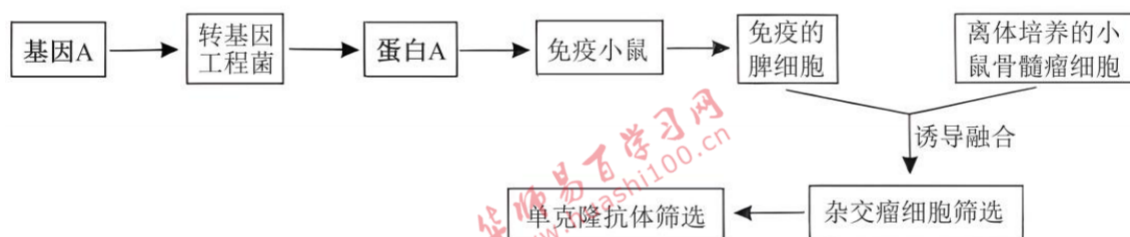
(6) 步骤⑥从_____中提取到大量的抗 CD14 抗体, 用于检测巨噬细胞。

4. (2024 高考江西卷多选) 某病毒颗粒表面有一特征性的大分子结构蛋白 S (含有多个不同的抗原决定基, 每一个抗原决定基能够刺激机体产生一种抗体)。为了建立一种灵敏、高效检测 S 蛋白的方法, 研究人员采用杂交瘤技术制备了抗-S 单克隆抗体 (如图)。下列说法正确的是 ()



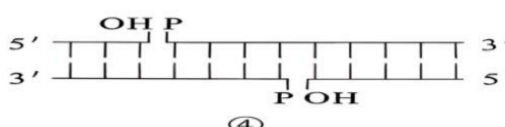
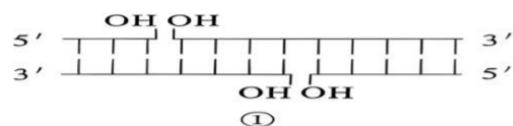
- A. 利用胶原蛋白酶处理，可分散贴壁生长的骨髓瘤细胞
- B. 制备的单克隆抗体 A 和单克隆抗体 B 是相同的单克隆抗体
- C. 用于生产单克隆抗体的杂交瘤细胞可传代培养，但不能冻存
- D. 单克隆抗体 A 和单克隆抗体 B 都能够特异性识别 S 蛋白

5. (2023 高考湖北卷) 某病毒对动物养殖业危害十分严重。我国学者拟以该病毒外壳蛋白 A 为抗原来制备单克隆抗体，以期快速检测该病毒，其主要技术路线如图所示。



回答下列问题：

- (1) 与小鼠骨髓瘤细胞融合前，已免疫的脾细胞（含浆细胞）_____（填“需要”或“不需要”）通过原代培养扩大细胞数量；添加脂溶性物质 PEG 可促进细胞融合，该过程中 PEG 对细胞膜的作用是_____。
- (2) 在杂交瘤细胞筛选过程中，常使用特定的选择培养基（如 HAT 培养基），该培养基对_____和_____生长具有抑制作用。
- (3) 单克隆抗体筛选中，将抗体与该病毒外壳蛋白进行杂交，其目的是_____。
- (4) 构建重组质粒需要使用 DNA 连接酶。下列属于 DNA 连接酶底物的是_____。



6. (2023 高考辽宁卷) 大量悬浮培养产流感病毒的单克隆细胞, 可用于流感疫苗的生产。

下列叙述错误的是 ()

- A. 悬浮培养单克隆细胞可有效避免接触抑制
- B. 用于培养单克隆细胞的培养基通常需加血清
- C. 当病毒达到一定数量时会影响细胞的增殖
- D. 培养基 pH 不会影响单克隆细胞的病毒产量