



**AGRO-BIO**  
La Réponse  
Protéomique &  
Immunologique

2 allée de la Chavannerie  
45240 La Ferté Saint Aubin  
France  
Tél. 33 (0)2 38 64 83 50  
Fax. 33 (0)2 38 64 83 59  
www.agro-bio.fr

6

# Protocole de développement d'anticorps monoclonaux chez la souris

Version 2010/01

FR

Agro-Bio vous propose un programme de développement alliant compétences et savoir-faire dans le développement d'hybridomes.

Avant de démarrer votre projet, une discussion avec notre département Culture Cellulaire est requise afin d'identifier vos besoins et vos contraintes et ainsi définir ensemble un cahier des charges précis.

Un programme standard de développement d'hybridomes s'articule comme suit (**durée minimale : 5 mois**) :

<b>Phase d'initialisation du projet :</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Renseigner le formulaire du cahier des charges du développement de votre anticorps monoclonal et nous le renvoyer.</li> <li>- Agro-Bio évalue en retour la faisabilité de votre programme.</li> <li>- Sur demande, une bibliographie portant sur votre antigène ou l'anticorps développé peut-être réalisée. Des coûts supplémentaires vous seront alors facturés.</li> </ul>
<b>Phase I : Immunisation (9 semaines)</b>	<p>Notre protocole standard sur 5 souris comprend :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Immunisation des animaux selon un protocole en 63 jours comprenant 4 injections et 2 prélèvements de contrôle.</li> <li>- Développement d'une <b>méthode ELISA spécifiquement mise au point</b> pour suivre la réponse immunitaire des animaux de votre protocole.</li> <li>- Suivi de la réponse immunitaire des souris immunisées afin de déterminer la ou les souris présentant le meilleur titre sérique.</li> <li>- Choix des souris pour la réalisation de l'étape de fusion.</li> </ul>
<b>Phase II : Fusion (2 semaines)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les splénocytes provenant de la meilleure souris sont fusionnés avec des cellules myéloïdes.</li> <li>- Les cellules ainsi fusionnées sont réparties en plaques 96 puits.</li> <li>- Les puits dans lesquels un seul clone a poussé sont identifiés 6 jours après la fusion.</li> </ul>
<b>Phase III : Criblage primaire (4-5 semaines)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les surnageants de culture provenant des puits identifiés sont testés en ELISA via la méthode précédemment développée.</li> <li>- Les hybridomes positifs sont ensuite répartis en plaques 24 puits de manière à subir une deuxième série de criblage suivant leur <b>spécificité vis à vis de l'antigène</b>.</li> <li>- Une banque de 5 cryotubes est réalisée.</li> </ul>
<b>Phase IV : Clonage (2 semaines)</b>	<p>En collaboration avec le client, l'hybridome retenu est <b>cloné</b> par des dilutions successives.</p>
<b>Phase V : Criblage secondaire (3-4 semaines)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les clones sont répartis en plaques 96 puits et un criblage secondaire est réalisé en ELISA.</li> <li>- Le meilleur clone positif est sélectionné et une <b>banque de 10 cryotubes</b> est réalisée.</li> </ul>

La qualification des anticorps produits pour une application particulière peut-être réalisée même si elle n'est pas incluse dans la prestation standard. Des coûts supplémentaires vous seront alors facturés.

Agro-Bio peut vous faire parvenir, sur demande, du surnageant de manière à tester les hybridomes selon vos propres méthodes.

Dans les deux semaines suivant l'envoi de votre bon de commande, vous recevrez un calendrier prévisionnel répertoriant les différentes étapes de votre prestation.

Sont compris dans nos protocoles :

- L'achat des animaux, la période de quarantaine et le transfert en expérimentation,
- Le gardiennage des animaux pendant le protocole,
- Les injections et prélèvements des animaux.

Ne sont pas inclus dans nos protocoles :

- Les frais de port.

Cf. Conditions générales de ventes.

L'animalerie d'Agro-Bio est agréée par la préfecture de Loir-et-Cher pour la réalisation d'expérimentation sur les animaux vertébrés.

**N° d'agrément : B 41-285-4**

Agro-Bio possède également un agrément au titre du **Crédit d'Impôt en faveur de la Recherche**.

