

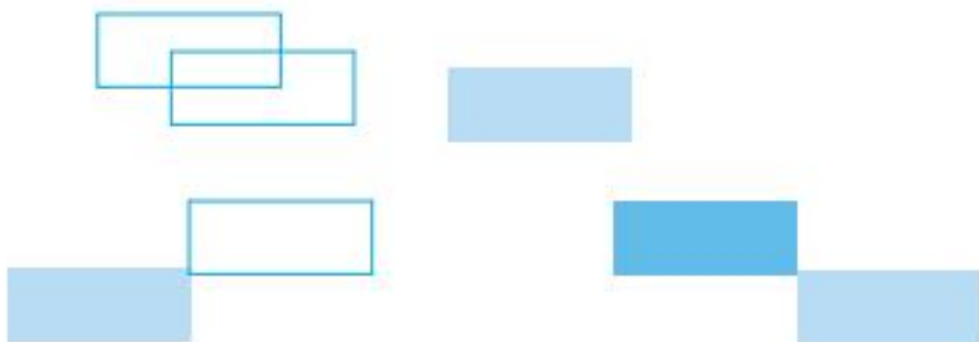
蛋白抗体开发实用手册

—— From Gene to Antibody ——

因为专业
所以信赖



武汉国家生物产业基地——光谷抗体发现与筛选公共服务平台
一站式抗体发现整体解决方案





Company Profile 公司简介

普健生物（武汉）科技有限公司于2012年在武汉成立，作为武汉国家生物产业基地指定的光谷抗体发现与筛选公共服务平台，具备领先的技术实力和国际化发展的战略格局，专注于重组蛋白、抗体、诊断原料、抗体药物发现等自主技术平台的建设和下游生物医药产品的战略合作。

Team Introduction 团队介绍

公司由来自中国和法国的优秀团队组建，以生命科学专业背景的青年学者为主。各成员热爱生命科学与技术，有着共同的奋斗目标并脚踏实地、锐意进取。



Dr. Olivier Leger
抗体人源化与序列优化

- 前默克雪兰诺公司抗体工程主管
- 30余年抗体工程行业经验
- 20余年抗体制药经验
- 那他珠单抗(Tysabri) 联合发明人



Dr. Richard Morse
结构生物学和生物信息学

- 15年计算生物学、生物信息学和结构生物学行业经验
- 麻省理工学院&加利福尼亚大学旧金山分校 博士&博士后
- 擅长抗体工程分子建模



Dr. Raphael Hopfner
癌症与表观遗传学

- 第五批“3551人才计划”
- 法国分子细胞和遗传学研究所 博士&博士后
- 普健生物：技术支持总监



万定一 博士
蛋白/抗体开发，工业应用方向

- 2年药物靶点蛋白研发、药物筛选模型建立经验
- 12年重组蛋白、传统抗体、重组抗体研发生产经验
- 擅长计算机辅助的抗原表位分析设计，MHC结合位点分析设计。抗体氨基酸序列分析

Core Technology 核心技术

普健生物的核心技术：重组蛋白表达与纯化、抗体研发、生产、抗体药物研发、生物工艺开发。

1. 自主知识产权的高效表达载体（pATX 系列）可以大幅度提高表达量（3-10 倍），自研及商业化转染体系为客户提供多种选择。拥有自主知识产权的 XtenCHO 细胞株，数千例重组表达项目验证的表达载体，培养基及转染体系，重组抗体瞬转表达量高达克级。

2. 成熟的噬菌体建库与筛选能力，自主开发千亿级人源合成抗体库（ATA-HN-SF Mix library），纳米抗体库（ATA-AN-VHH Mix library）；人源合成抗体库库容大（ 10^{11} ），样本来源丰富，抗体正确率高（90%），多样性高，且几乎覆盖了抗体重链，轻链的全部种系基因家族。重链 CD3 区长度分布呈现正态分布，符合天然抗体库的客观规律，说明该库未有明确的倾向性，抗体多样性分布广泛均一。

3. 领先的 MHC 多肽蛋白复合物表达技术，自主知识产权的 XtenCHO 表达体系开发的 MHC 四聚体复合物，对 T 细胞有更大的亲和力，并保持更稳定的结合，内毒素可低至 0.1EU/ml，表达产物可灵活选择单体或四聚体。

4. 自主优化低内毒蛋白纯化工艺（ATA-low endotoxin technology），纯化的重组抗体内毒含量可低至 0.1EU/ml，为抗体筛选及抗体药开发提供便捷高效安全的服务。

Advantage Platform 优势平台



重组蛋白表达与纯化

- 哺乳动物细胞表达系统
- 大肠杆菌表达系统
- 昆虫杆状病毒系统
- 毕赤 / 酿酒酵母系统
- 枯草芽孢杆菌系统
- MHC I 多肽复合物表达体系



抗体研发、生产

- Single B cell 抗体筛选技术
- 鼠 / 兔 单克隆抗体
- 噬菌体抗体免疫 / 天然文库
- 修饰性抗体
- 多种属多克隆抗体
- 猫 / 狗噬菌体抗体库抗体筛选



诊断原料开发

- 抗原抗体原料制备
- 大规模单克隆抗体生产
- ELISA 试剂盒开发
- 化学发光试剂盒开发



抗体药物研发

- 重组抗体表达技术
- 抗体人源化
- 双特异性抗体工程
- 稳定细胞株构建

目录

01 重组蛋白表达与纯化

哺乳动物细胞（293、CHO）表达系统	006
XtenCHO 表达系统	008
稳定细胞株构建	010
昆虫杆状病毒表达系统	012
3H 大肠杆菌表达系统	014
MHC I- 多肽复合物蛋白制备	016
富含二硫键蛋白的原核表达服务	017
酵母（毕赤酵母、酿酒酵母）表达系统	018
枯草芽孢杆菌表达系统	021

02 抗体制备平台

快速兔单克隆抗体制备	023
鼠单克隆抗体的制备	025
纳米抗体（VHH）制备	026
多克隆抗体制备	028
修饰性（磷酸化，甲基化，乙酰化）抗体制备	030
小分子抗体制备	032
DNA 免疫抗体制备	033
小鼠单抗抗体对开发	034
大规模单克隆抗体生产服务	036

03 抗体药物研发平台

噬菌体展示抗体发现技术平台	038
杂交瘤技术抗体发现平台	041
Xten™ Mab Single B 兔单克隆抗体开发	042
杂交瘤测序	044
抗体人源化	045
双特异性抗体	047
抗独特型抗体制备	049

目录

04 重组抗体生产平台

嵌合抗体生产	052
抗体片段生产	054
高通量低内毒素重组抗体表达	056
大规模重组抗体生产	057

05 IVD 原料开发平台

诊断原料及诊断试剂盒开发平台	059
----------------------	-----

06 基础检测平台

细胞培养及转染	061
细胞增殖 / 毒性检测	062
细胞凋亡检测	063
流式细胞检测	064
Transwell 检测	065
平板克隆检测	066
Real-Time PCR	067
双荧光素酶报告基因检测	069
SPR 亲和力测定	071
Western Blot	073
免疫组化 IHC	074
免疫荧光 IF	075
免疫共沉淀 Co-IP	076
GST Pull-Down	077

07 协助客户发表文献

部分文献引用	078
--------------	-----

08 企业风采

实验室风采	080
公司荣誉	081

NEXT	哺乳动物细胞（293、CHO）表达系统	006
	XtenCHO 表达系统	008
	稳定表达细胞株（293、CHO）构建	010
	昆虫杆状病毒表达系统	012
	3H 大肠杆菌表达系统	014
	MHC I- 多肽复合物蛋白制备	016
	富含二硫键蛋白的原核表达服务	017
	酵母（毕赤酵母、酿酒酵母）表达系统	018
	枯草芽孢杆菌表达系统	021

普健生物拥有专业的技术团队，在蛋白表达领域有着 15 年的经验，近 20000+ 重组蛋白表达与纯化经验。

普健生物拥有六种表达系统：大肠杆菌表达系统，枯草芽孢杆菌表达系统，酵母表达系统，昆虫表达系统，哺乳表达系统，二硫键活性原核表达系统。

普健生物专注于重组蛋白的表达，蛋白可溶性表达成功率在 90% 以上。

哺乳动物细胞蛋白表达系统

服务简介

1. 载体构建

- (1) 可将 cDNA 克隆至客户或者普健生物提供的哺乳细胞的表达载体中
- (2) 可在表达载体中添加分泌信号肽和纯化标签，促进蛋白分泌表达及满足一步亲和纯化的需求
- (3) 能生产并鉴定高效稳定细胞系，适合大规模发酵生产

2. 稳定基因表达符合长期生产需求。整个实验操作流程提供长期稳定及规模可调的蛋白生产

3. 瞬时表达 (TGE)

(1) 与稳定基因表达相比，TGE 主要适用于短期内制备重组蛋白，一般在 10 天内即可快速转染，无需质粒 DNA 的遗传性选择

(2) 普健生物的瞬时表达使用悬浮细胞，能够完成毫升到 100L 的体积的蛋白表达

4. 工艺过程开发及扩大规模。普健生物能够优化表达过程以及表达产物，预测细胞表达量，摸索发酵罐发酵条件，适合大规模发酵生产

5. 纯化：普健生物拥有完善的蛋白纯化系统，亲和纯化，凝胶过滤，离子交换及疏水层析等纯化方法，能够完成各类型蛋白的纯化，以及纯化工艺的摸索

普健生物提供表达载体构建、瞬时转染、表达测试及大规模动物细胞发酵和蛋白纯化等一站式蛋白技术服务。

表达方式	细胞
瞬时表达	HEK293, HEK293 细胞来源于 293 细胞系，采用无血清悬浮培养 CHO-S, CHO-S 细胞是来自中国仓鼠卵巢细胞的克隆分离株，被驯化为无血清悬浮培养
稳定表达	CHO-K1, CHO-K1 由 CHO 衍生而来，该细胞株培养条件简单、贴壁强度适中，比较容易转染
稳定细胞株构建	DG44, DG44 细胞 (二氢叶酸还原酶缺陷型, DHFR-) 由中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞衍生而来，常用于构建适合重组蛋白生产的细胞系。DG44 细胞筛选和共扩增标记是 DHFR 基因 (dhfr)

表达载体：pcDNA3.1, pIRES, pTT3, pCEP4, pATX1 等

服务优势

经验丰富：团队具有十多年丰富的蛋白表达经验，累计完成 5000+ 哺乳表达项目，200+ 稳转细胞株构建项目

可提供多种表达服务：瞬时转染表达，重组抗体表达生产，稳定细胞株构建服务

1. 瞬时转染表达：无血清悬浮培养的多种哺乳细胞表达系统，自主研发高产表达体系，大幅度提高表达量 (3-6 倍)，同时提供商业化转染体系为广大客户提供多种选择

2. 重组抗体表达：拥有一套经过反复验证的载体 - 细胞 - 转染高效表达体系，轻松获得抗体的稳定性克级生产

3. 稳定细胞株构建：拥有的自主知识产权的 CHO-K1 改造细胞系可提供蛋白及抗体药物研发生产服务

4. 十万级洁净细胞房：可提供 <0.1EU/ml 级别的低内毒蛋白表达服务 / 产品

5. 大规模生产：无血清悬浮细胞培养每批次 200L+ 生产

6. 一站式服务：基因优化、蛋白结构分析与表达方案设计，瞬时转染，稳定细胞株构建，重组抗体生产、数据分析

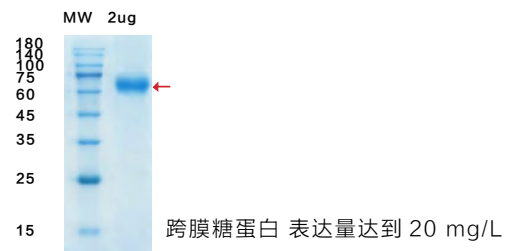
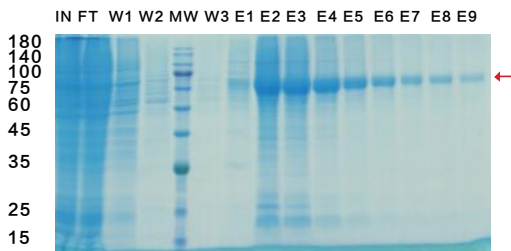
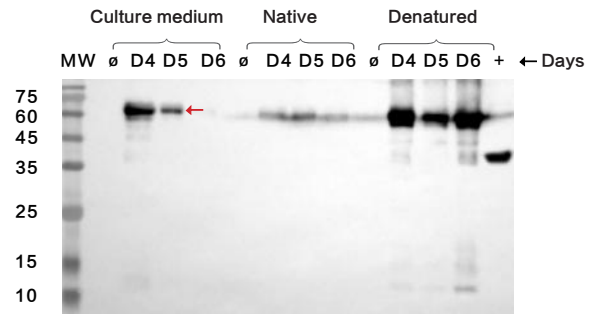
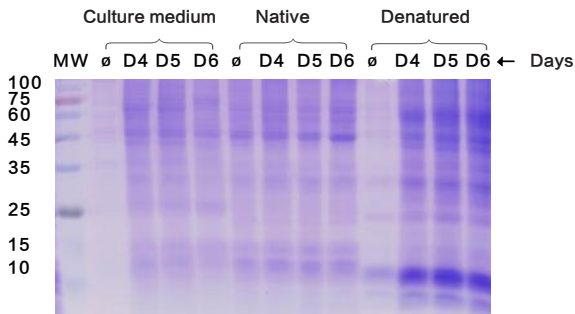


服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
哺乳动物细胞表达系统	基因序列 载体	基因合成	2-4 周	
		表达及纯化测试	2 周	提供表达及纯化测试报告 决定是否进行下一步放大
		1L 表达及纯化	2 周	提供蛋白样品及报告
		摇瓶或发酵罐放大	2-4 周	提供蛋白样品及报告

案例展示

HEK293 细胞瞬转表达病毒跨膜糖蛋白



普健生物的 XtenCHO™ 高密度瞬转表达系统

服务简介

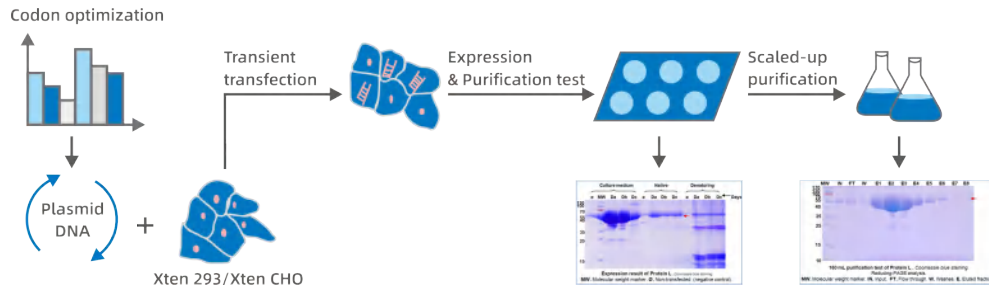
XtenCHO™ 由 Atagenix 自主开发用于高效表达蛋白抗体高密度瞬转表达系统，该系统具有表达量高（一般为 200–400mg/L，部分抗体的表达量高达 1g/L），工艺简单，有利于高通量抗体表达。

服务优势

1. XtenCHO™ 细胞是 Atagenix 开发的一种经基因改造的 CHO 细胞株，使用含配套元件的载体，可以使转染进入细胞的表达载体拷贝数增加，延长游离质粒在细胞内的停留时间，从而使载体携带的目的基因获得高水平，持续表达。

2. XtenCHO™ 高密度瞬转表达系统改进了 CHO 常规转染方法，采用新颖的高密度转染方法和特殊的细胞培养模式，提高了转染后的细胞活率，使转染细胞存活时间从常规 6–7 天延长至 10–14 天，进一步提高了目的蛋白的产量。

3. XtenCHO™ 高密度瞬转表达系统的转染试剂、表达培养基和补料培养基相较于常用的阳离子脂质体转染试剂、商业化 CHO 瞬转培养基以及补料培养基，成本大大降低，更适用于工业生产，在规模较大的重组蛋白瞬时表达生产中更能体现其性价比高的特点。



服务流程

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
哺乳动物细胞表达系统	基因序列 载体	基因合成	2–4 周	
		表达式及纯化测试	2 周	提供表达及纯化测试报告 决定是否进行下一步放大
		1L 表达及纯化	2 周	提供蛋白样品及报告
		摇瓶或发酵罐放大	2–4 周	提供蛋白样品及报告

案例展示

1. 与其它商业化表达系统的比较

使用 XtenCHO™ 高密度瞬转表达系统和其它公司的两个商业化 CHO 瞬转表达系统 CHO Expression system 1 和 CHO Expression system 2 同时对一个抗体进行表达，转染后的细胞密度和活率监测及抗体产量见图 1 和图 2:

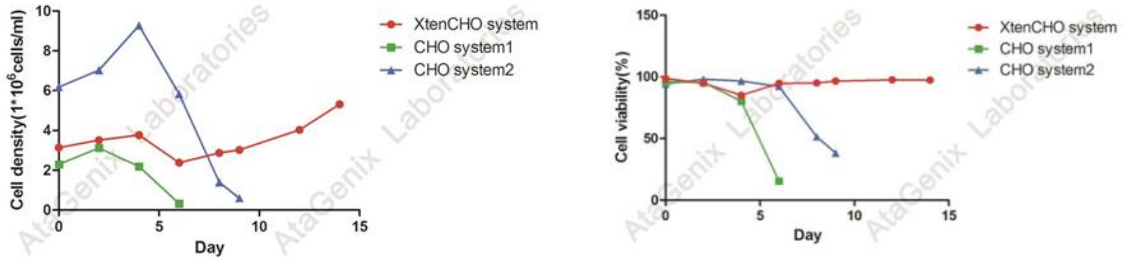


图 1 不同表达系统转染后细胞密度及活率监测

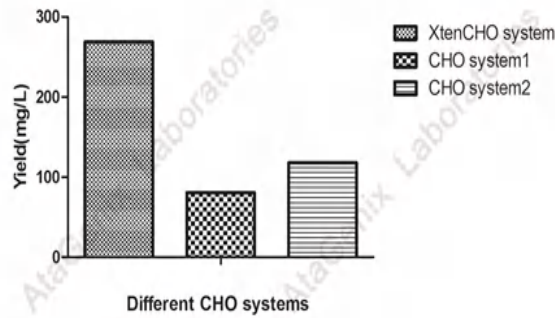


图 2 不同表达系统表达相同抗体产量比较

2. 不同治疗性重组抗体表达测试

选取 4 种典型的治疗性重组抗体序列，用 XtenCHO™ 高密度瞬转表达系统进行表达测试。抗体产量见图 3:

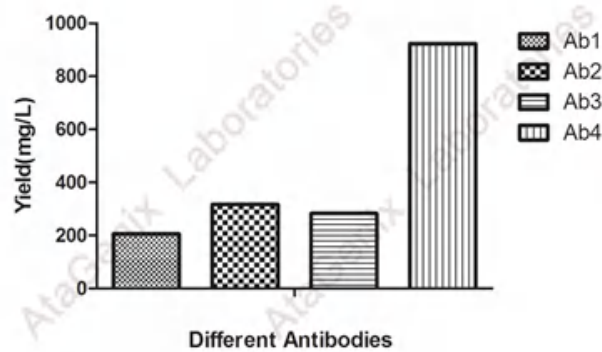


图 3 XtenCHO™ 系统表达不同抗体的产量测定

Ab1: Pembrolizumab, Ab2: Utomilumab, Ab3: Trastuzumab, Ab4: Claudiximab

稳定细胞株构建

服务简介

细胞转染，是将外源分子（如 DNA, RNA 等）导入真核细胞中的一种技术；

转染分为：瞬时转染和稳定转染

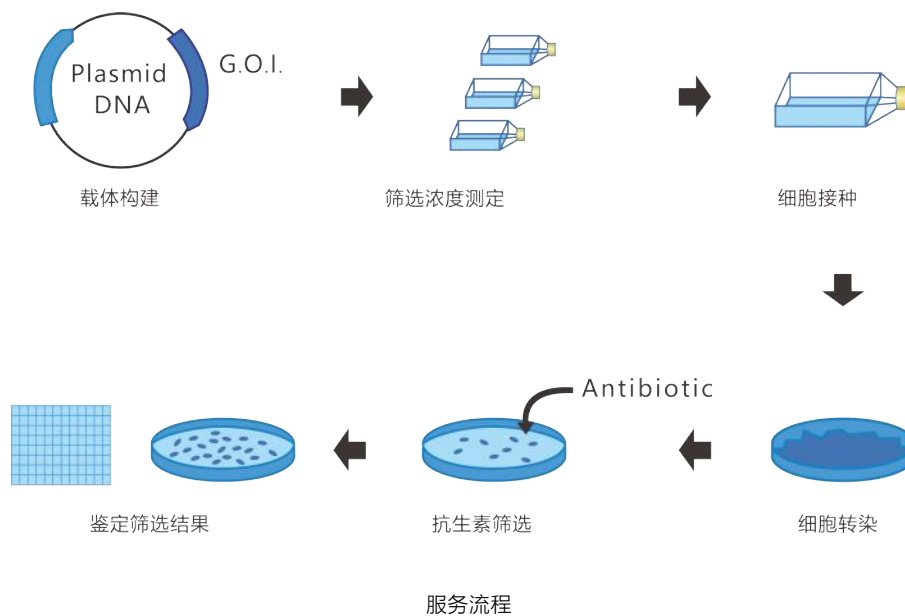
瞬时转染：指外源 DNA 或 RNA 转入宿主细胞后不整合到宿主染色体中进行外源目的基因的表达

稳定转染：指外源 DNA 转入宿主细胞后将外源目的基因整合到宿主染色体中进行表达

稳定转染的特点：

1. 目的基因整合到染色体上，需要使用线性 DNA（线性 DNA 虽然比超螺旋状的 DNA 转入量低，但整合率高）
2. 外源 DNA 整合到宿主细胞染色体中大约为 1%，通常需要通过一些选择性标记反复筛选，才能得到稳定转染的同源细胞系
3. 随宿主细胞基因组复制、转录、翻译，并被稳定遗传
4. 用于获得稳定表达的外源基因的单细胞克隆：如大规模蛋白质的合成，长期的药理学研究遗传机制的研究等

稳定细胞株：一般是将外源 DNA 克隆到具有某种抗性或者选择基因的载体上，载体被转染到宿主细胞并整合到染色体中，用载体中所含的选择标志进行筛选，筛选得到可稳定表达目的蛋白的细胞株



服务优势

高质：外源基因严格鉴定，细胞来源清晰，无污染

高产：重组蛋白 / 抗体表达量可快速优化至 2g/L 以上稳定表达

稳定：独有的 GS 稳转系列载体配合 MSX 药物筛选，实现稳定传代 15 代以上

快速：筛选高产细胞株，周期短至 3 个月

灵活定制：可针对重组蛋白 / 抗体全长或片段进行个性化表达

经验丰富：专业的技术团队，已成功为国内外多家医药公司和研究单位构建交付稳定细胞株

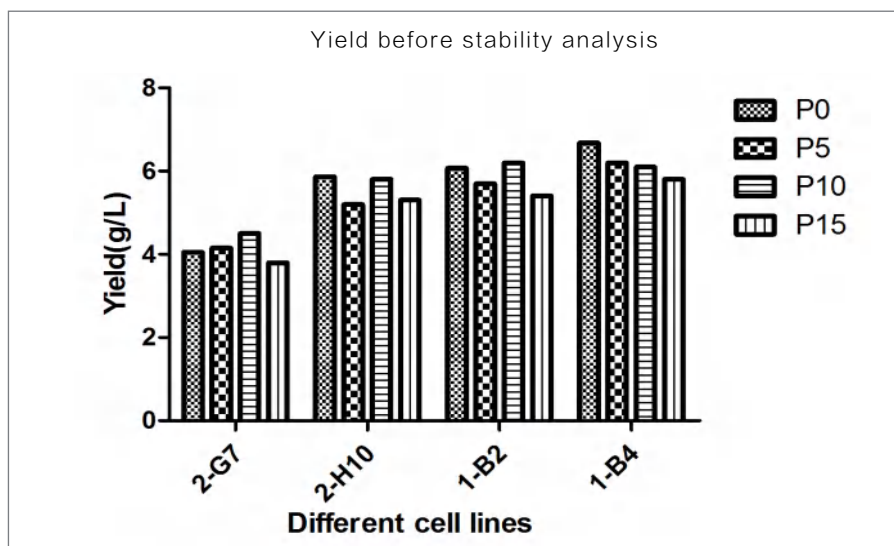
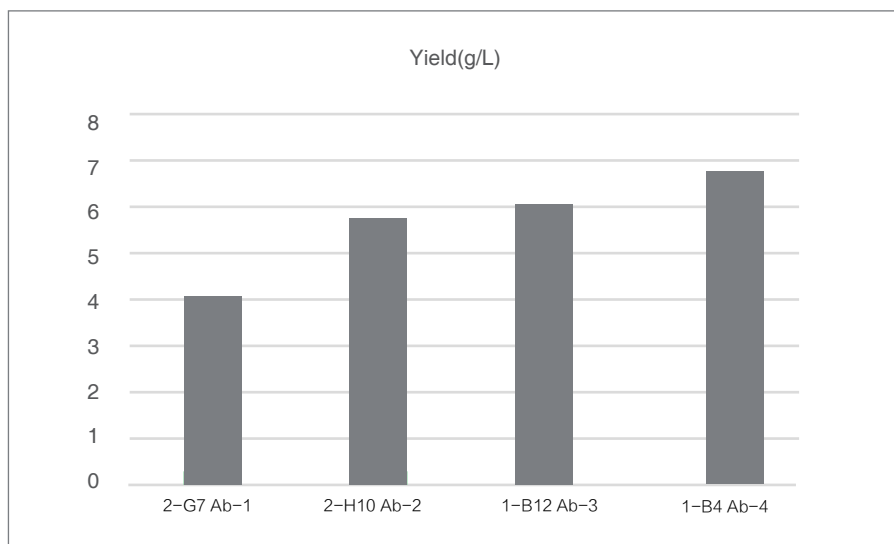
多筛选系统：G418/潮霉素 / 嘌呤霉素筛选系统，GS/DHFR 双基因筛选系统等

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
重组抗体, 细胞因子等生物药的稳转细胞系前期筛选	基因序列、载体、细胞	重组表达质粒构建	1周	稳转细胞株 技术服务报告
		药物本底浓度测定	1-2周	
		细胞转染	1天	
		多克隆稳定细胞株筛选及鉴定	2-3月	
		单克隆稳定细胞株筛选及鉴定	2月	
		稳转细胞株产量、活性检测及稳定性研究 (根据客户需求)		

案例展示

构建生产重组抗体的 CHO 稳定细胞株



昆虫杆状病毒表达系统

服务简介

昆虫杆状病毒表达系统 (BEVS) 是一种利用杆状病毒作为外源基因的载体, 通过感染昆虫细胞或者昆虫幼虫来表达外源蛋白的系统, 是重要的真核表达系统之一。

1. 昆虫杆状病毒表达系统的优势:

- 杆状病毒安全性好
- 携带外源基因的容量大
- 外源目的蛋白质表达水平高
- 表达的真核基因产品可以进行正确的折叠与修饰, 因而具有良好的生物活性。

2. 与哺乳细胞相比昆虫表达系统的优势:

- 培养条件相对简单, 不需要 CO₂
- 不容易被细菌污染
- 能进行蛋白翻译后糖基化修饰
- 大规模生产条件简单, 更易获得大量蛋白

Vector	Features
pFastBac1	Strong AcMNPV polyhedrin (PH) promoter for high level protein expression Large multiple cloning site for simplified cloning
pFastBacHT	Strong polyhedrin (PH) promoter for high-level protein expression N-terminal 6His tag for purification of recombinant fusion proteins using metal-chelating resin and a TEV protease cleavage site for removal of the 6His tag following protein purification Vector supplied in 3 reading frames for simplified cloning
pFastBacDual	Two strong baculovirus promoters (PH and p10) to allow simultaneous expression of two proteins Two large multiple cloning sites for simplified cloning

常见的表达载体及特征

细胞	来源	用途
Sf9	Sf9 细胞系克隆分 IPLBSF21-AE(Sf21), 来源于秋蝇蠕虫 (草地夜蛾) 蛹的卵巢组织	适于转染、纯化、生产高滴度病毒、铺板以及表达重组蛋白
Sf21	Sf21 细胞衍生于 IPLBSF-21 细胞系, 也来源于秋蝇蠕虫 (草地夜蛾) 蛹的卵巢组织	也适于转染、纯化、生产高滴度病毒、铺板以及表达重组蛋白。在一些结构上 Sf21 细胞可能比 Sf9 细胞表达蛋白量高
Hi5	Hi5 细胞系源于博伊斯汤普森研究所对植物的研究和源于白菜尺蠖卵巢细胞, 粉纹夜蛾细胞	Hi5 细胞表达重组病毒性能优越, 经常用于转染和空斑纯化, 也适用于表达分泌型重组蛋白
S2	S2 是一种果蝇晚期胚胎细胞。其中多为雌性四倍体细胞, 也有双倍体细胞	比较适合重组蛋白的表达

常见的表达细胞及特征



服务优势

1. 普健生物利用经典 Bac-to-Bac 技术，打造了一个快速简便高效的杆状病毒表达平台；该技术能够快速地产生产重组病毒，而且不需要繁琐的空斑分析，大大提高了效率
2. 蛋白生产的周期短，通量大。可以实现细胞从小规模培养到大规模发酵的过程，使得蛋白产物甚至可以达到 100mg/L 的级别
3. 提供免费的病毒粒子扩增和储存服务，储存期长达 2 年

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
昆虫杆状病毒表达系统	基因序列 载体	基因合成及密码子优化 (可选) 载体构建 病毒包装及扩增 表达纯化测试 大规模发酵及纯化	6-8 周	蛋白样品 技术服务报告

案例展示

案例 1 昆虫 - 杆状病毒系统表达大蛋白 A(272 KD)

普健采用昆虫 - 杆状病毒表达系统，C 端融合 6*His 标签表达了大小为 272 KD 的蛋白 A，经过 P1 代表达测试，病毒扩增后分别转染 Sf 细胞和 Tn 细胞测定 MOI，选取最佳表达条件进行 P2 代表达测试和 200ml 表达纯化，最终得到的蛋白 A 纯度 90%，产量 5mg/L。

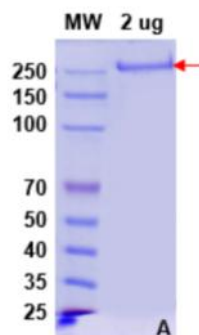


图 1. 蛋白 A 纯化质检图，MW. 分子量标记。

案例 2 昆虫 - 杆状病毒系统表达 G 蛋白偶联受体 (蛋白 B)

普健生物采用昆虫 - 杆状病毒表达系统，N 端融合 10*His 和 Flag 标签表达了大小为 42 KD 的 G 蛋白偶联受体 - 蛋白 B(7 次跨膜区，2 个糖基化位点)，经过 P1 代表达测试，病毒扩增后分别转染 Sf 细胞和 Tn 细胞测定 MOI，选取最佳表达条件进行 P2 代表达测试和 200 ml 表达纯化，最终得到的蛋白 B 用 biacore 测定了跟配体的亲和力，亲和力在 uM 级。

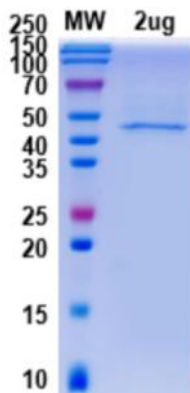


图 2. 蛋白 B 纯化质检图 MW. 分子量标记。

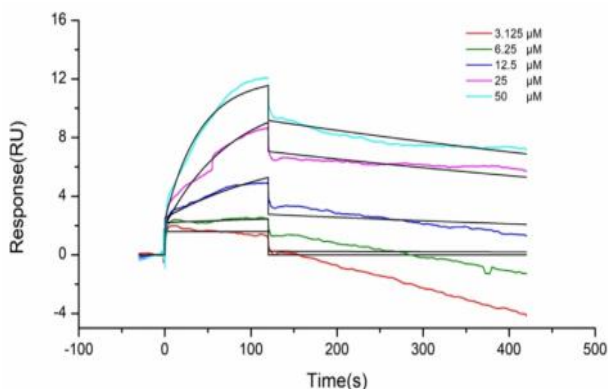


图 3. 蛋白 B 跟配体亲和力测定结果

3H 大肠杆菌表达系统

服务简介

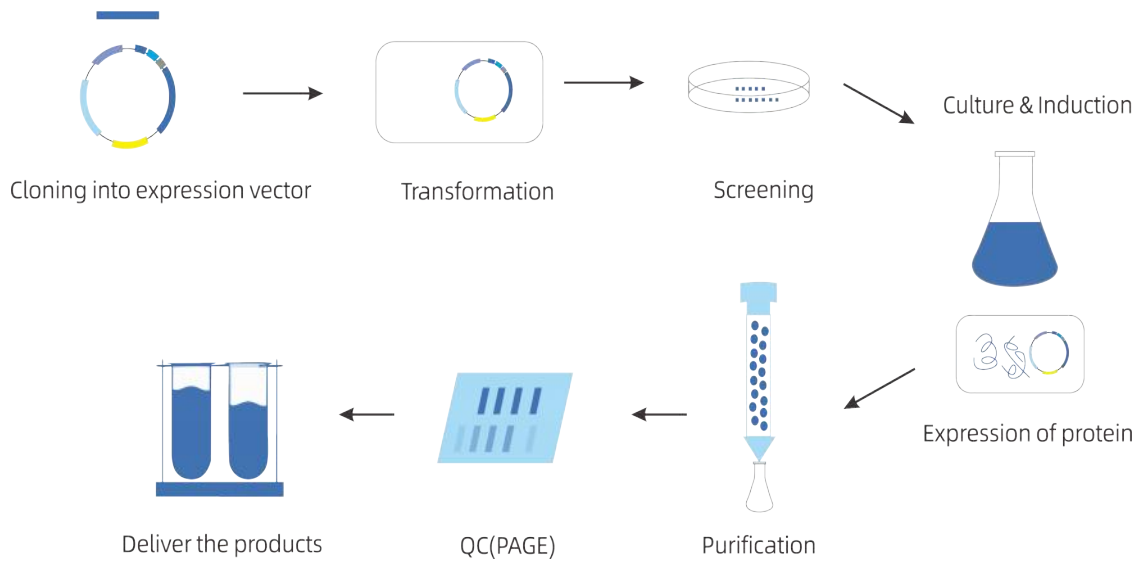
大肠杆菌表达系统具有遗传背景清晰，培养周期短，易于放大生产，抗污染能力强等诸多优点，是目前应用最为广泛的表达系统之一。普健生物经过十多年的打磨，建立了3H(High through、high efficiency、high quality)大肠杆菌表达系统，平台的表达成功率大于95%；独有的表达纯化以及复性平台，已成功交付上万例大肠杆菌表达服务项目。

服务优势

1. 普健生物具有十几年的蛋白表达经验，15台中大型微生物培养摇床及发酵设备、12台超声破碎仪、中试型高压均质仪等配套设备，可以实现高通量，大规模大肠杆菌表达生产

2. 具有多种大肠杆菌表达载体 pET 系列、pGEX 系列等；多种表达宿主：标准表达菌株、可增强蛋白表达的菌株 T7E、表达毒性蛋白的 C41、增强蛋白可溶性表达的超低温菌株 Arctic、以及其它经过 AtaGenix 优化改造的菌株；通过不同载体和菌株的优化组合，可以实现蛋白的高效表达，蛋白表达成功率超过 95%

3. 普健生物具有完善的大肠杆菌表达、纯化、内毒素控制生产线，可以生产高质量蛋白，用于细胞活性实验，动物实验等，满足高质量的蛋白使用需求



服务流程



案例展示

以蛋白 A 为例：

1. 优化表达体系，包括宿主菌、诱导温度、诱导时间、诱导剂的浓度及培养基。

宿主菌	诱导温度	诱导时间	诱导剂	培养基
T7E, BL21, C41, Arctic	30°C /37°C	1h/4h	IPTG	自诱导培养基

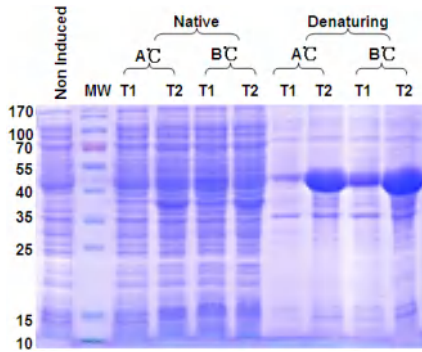


图 1. A 蛋白的最佳表达条件

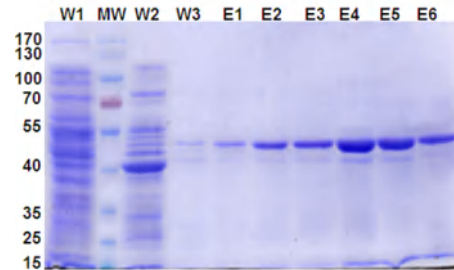


图 2. A 蛋白的纯化结果

摇瓶的表达量为 8mg/L，随后进行了发酵条件的优化，包括培养基成分的优化、分批及补料的测试，70L 分批发酵的表达量为 60mg/L

2. 纯化结束后用 3C 酶去除蛋白上的 MAT 标签，具体结果如图 3、图 4 所示

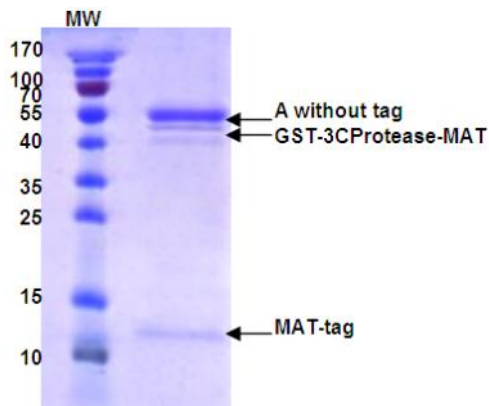


图 3. A 蛋白酶切后结果

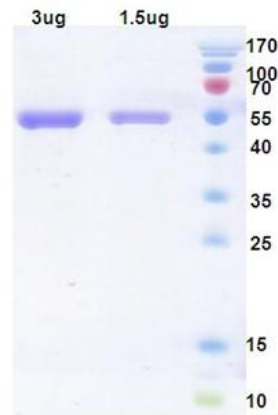
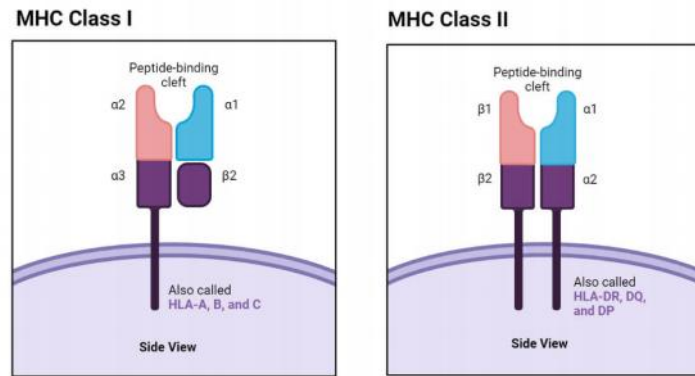


图 4. 去除标签及 3C 酶后的 A 蛋白 QC

MHCI- 多肽复合物蛋白制备

服务简介

MHC 称为主要组织相容性复合体，人类的 MHC 称为人类白血球抗原 (Human Leukocyte Antigen)，简称 HLA。人类 MHC 可分为 MHC I、MHC II 和 MHC III。其中，MHC I 是由 1 个跨越细胞膜的 α 链和一个连在这个链上的细胞外 $\beta 2$ 微球蛋白 ($\beta 2$ -microglobulin, B2M) 组成。整个分子由 4 个区域组成，其中 3 个区位于 α 链上 ($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$)， $\beta 2$ 微球蛋白组成第 4 个区。位于细胞外的 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 组成一个凹槽，多肽可以结合在这个凹槽里。大部分 T 淋巴细胞表面表达单一的高度特异性抗原受体 TCR，在抗原提呈细胞 (APC) 作用下，TCR 可以直接与 MHC I-多肽复合物相结合，启动 CD8 特异性免疫应答。TCR 对单体 MHC I-多肽复合物的亲和力相对较低，失配率快，而对 MHC I-多肽四聚体的亲和力大大增强。



人类 MHC I 和 MHC II 分子结构示意图

服务优势

1. 3 种成熟的表达系统可自由选择 (大肠杆菌、哺乳动物细胞、昆虫杆状病毒)
2. MHC-多肽复合物制备工艺成熟 (优化的折叠比例和结合比例，工艺更稳定)
3. 普健生物自主研发 SA 活性蛋白 (可使生物素化 MHC-多肽单体形成四聚体)

服务内容

服务内容	客户提供	服务周期	交付内容
MHCI-多肽复合物蛋白制备	提供 Peptide, MHC restriction 信息	2-3 周左右	蛋白样品 技术服务报告



富含二硫键蛋白的原核表达服务

服务简介

众所周知，富含二硫键的蛋白结构比较复杂，在大肠杆菌中表达时可溶性很低，极易形成包涵体，得到有活性蛋白的几率很低。

普健采用新型原核表达系统，极大提高了富含二硫键蛋白在大肠杆菌中成功表达的几率，可达 90% 以上。

服务优势

1. 丰富的蛋白表达经验
2. 全面的技术服务，普健生物能够提供从基因合成，载体构建，蛋白表达及纯化，蛋白功能研究等技术服务

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
富含二硫键蛋白的原核表达服务	序列或菌株	表达载体构建	2-3 周	蛋白样品 技术服务报告
		E.coli 表达菌株转化及筛选		
		目的蛋白的诱导表达		
		目的蛋白的纯化与详细检测		
		提交报告		

毕赤酵母表达系统

服务简介

毕赤酵母 (*Pichia pastoris*) 表达系统是近年来发展迅速、应用广泛的一种真核表达系统。它是甲醇营养型酵母菌，有两个乙醇氧化酶 (Alcohol oxidase, AOX) 编码基因 AOX1 和 AOX2，两者序列相似，AOX1 基因严格受甲醇诱导和调控。当甲醇为唯一碳源时，AOX1 启动子可被甲醇诱导，启动乙醇氧化酶的表达，从而用甲醇进行代谢，含 AOX1 启动子的质粒可用来促进编码外源蛋白的目的基因的表达。

主要优势：

1. 含有特有的强有力的 AOX (乙醇氧化酶基因) 启动子，用甲醇可严格地调控外源基因的表达
2. 产物易分离，毕赤酵母所用发酵培养基十分廉价，一般碳源为甘油或葡萄糖及甲醇，其余为无机盐，培养基中不含蛋白，有利于下游产品分离纯化
3. 外源蛋白基因遗传稳定，外源基因能以高拷贝数整合到毕赤酵母基因组中，不易丢失并能够得到高表达菌株
4. 作为真核表达系统，毕赤酵母具有真核生物的亚细胞结构，具有糖基化、脂肪酰化、蛋白磷酸化等翻译后修饰加工功能

表达菌株特点：

GS115: AOX1 和 AOX2 基因都正常表达 AOX 蛋白 (乙醇氧化酶)，甲醇的利用效率高，接近于野生型，属于甲醇快速利用型 (Mut⁺)

KM71: AOX1 基因被大部分剔除，只能利用 AOX2 为 AOX 编码，甲醇利用速率变慢，表现为甲醇慢利用型 (Mut^s)
外源基因的整合方式不同会导致表达菌株的表型不同：

限制酶	插入位点	GS115 表型	KM71 表型
Sal I /StuI	HIS4	HIS+Mut ⁺	HIS+Mut ^s
SacI	5' AOX1	HIS+Mut ⁺	HIS+Mut ^s
Bgl II	取代 AOX1	HIS+Mut ^s	HIS+Mut ^s

Table 1. 菌株表型

表达类型	载体名称	筛选标记	启动子
胞内表达	pAO815	HIS4	AOX1
	pPIC3K	HIS4	AOX1
	pPIC3.5K	HIS4	AOX1
分泌表达	pPICZ α , A, B, C	ble ^r	AOX1
	pPIC9K	HIS4	AOX1

Table 2. 载体信息

对于胞外表达的蛋白除了可以用载体自带的信号肽, 还有以下信号肽可供选择:

信号肽	蛋白序列
AlphaMF*	MRFPSIFTAVLFAASSALAAPVNTTTEDETAQIPAEAVIGYSDLGDFDVAVL PFSNSTNNGLLFINTTASIAAKEEGVSLEKREAEA
Dse4	MSFSSNVPQLFLLLVLNTNIVSG
Exg1	MNLYLITLLFASLCSA
Scw11	MLSTILNIFILLFIQASLQ
SAIb	MKWVTFISLLFLFSSAYS

Table 3. 信号肽序列

服务优势

1. 具有完备的毕赤酵母表达平台, 可以根据蛋白特性或客户需求设计不同的实验方案
2. 具有高通量筛选平台, 可以快速有效的得到最佳表达条件
3. 具有大规模发酵生产的能力

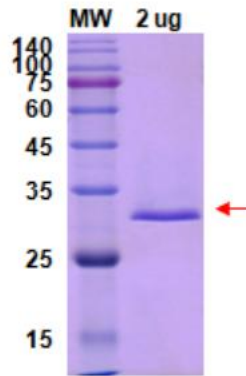
服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
毕赤酵母表达系统	基因序列 载体 菌株	基因合成, 密码子优化	2-4 周	蛋白样品 技术服务报告
		亚克隆	1 周	
		蛋白表达测试, 高通量筛选	2-3 周	
		发酵纯化	1-2 周	

案例展示

案例 1:

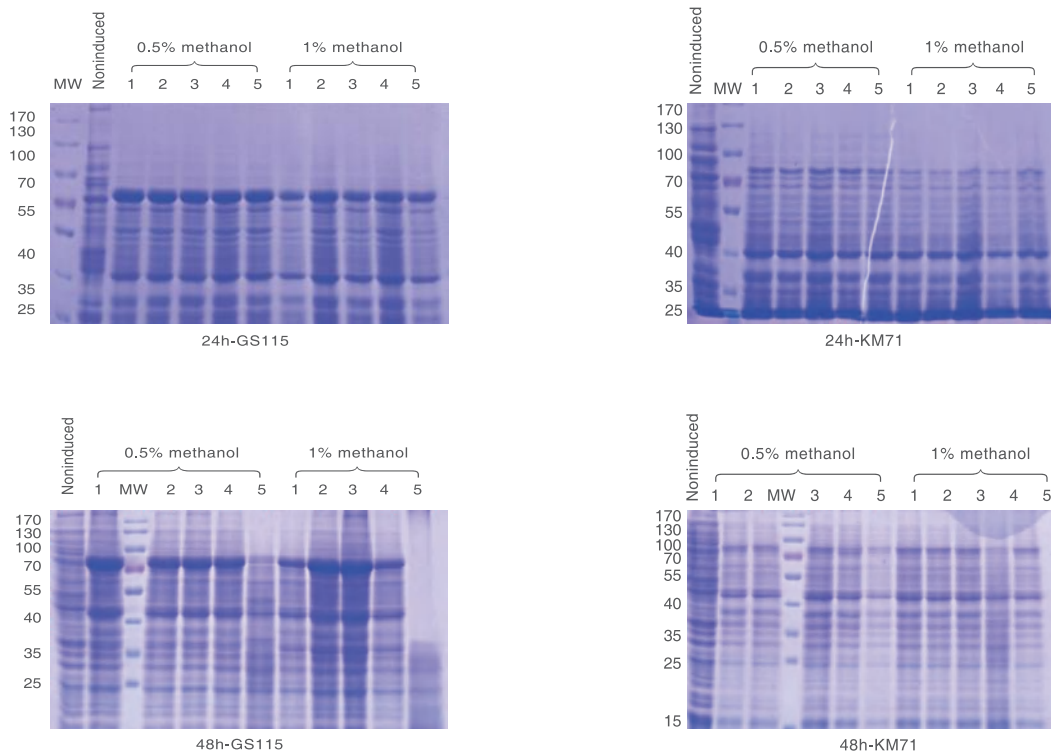
蛋白 A 全长基因合成后亚克隆至表达载体 pPICZ α A, 转化毕赤酵母菌株 X33, 蛋白分泌表达成功 (28kDa; C 端 6*His), 产量 7mg/L, 纯度大于 90%, 质检图如下:



蛋白 A Reduced SDS-PAGE 纯化质检图

案例 2:

蛋白 B 基因合成后亚克隆至表达载体 pPIC3.5K 分别转化毕赤酵母菌株 GS115/KM71 进行胞内表达, SDS-PAGE 检测结果显示蛋白 B (糖基化后 40kDa) 有明显表达, 其中克隆 GS115-5# (24h, 0.5% 甲醇), GS115-2# (48h, 1% 甲醇), GS115-3# (48h, 1% 甲醇) 都能成功表达目的蛋白。



蛋白 B Reduced SDS-PAGE 表达测试图



枯草芽孢杆菌表达系统

服务简介

1. 细胞壁的组成简单，分泌的蛋白质产品中不会混杂内毒素
2. 能够大量分泌胞外目的蛋白，回收和纯化都较为简单
3. 拥有一套高效的分泌信号肽及分子伴侣系统，可以完成目的蛋白的高效分泌表达，避免包涵体的形成

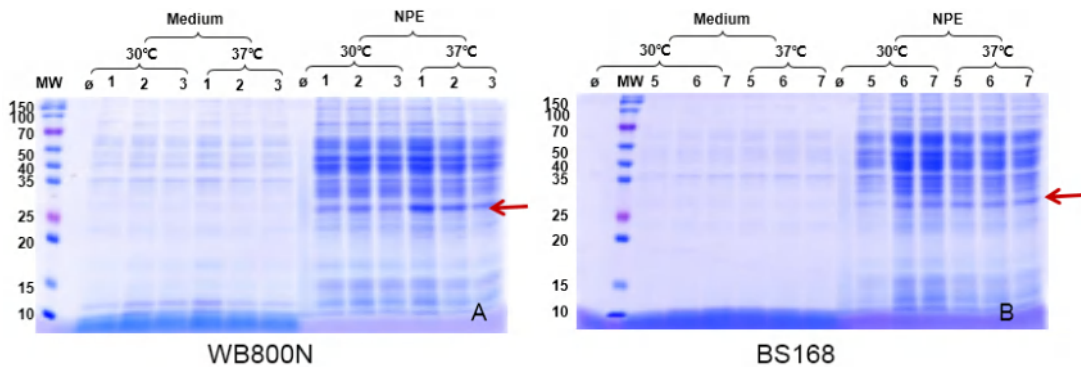
服务优势

1. 拥有多种枯草芽孢杆菌表达载体，如 pHT01、pHT43、pHT254
2. 有多种不同的表达宿主，如胞内表达的 AS1、1012 和 BS168，分泌表达的 WB800N；可满足客户胞内或者分泌表达的不同要求
3. 可制备高效率的枯草芽孢杆菌感受态

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
枯草芽孢杆菌表达系统	基因序列 载体 菌株	基因合成	2-4 周	
		表达纯化测试	2 周	提供表达纯化测试报告，决定是否进行下一步的放大
		1L 表达及纯化	2 周	提供蛋白样品及报告
		发酵及纯化	1-4 周	提供纯化的蛋白及报告

案例展示





抗体制备平台

Antibody preparation platform

2

NEXT	快速兔单克隆抗体制备	023
	鼠单克隆抗体的制备	025
	纳米抗体 (VHH) 制备	026
	多克隆抗体制备	028
	修饰性抗体制备	030
	小分子抗体制备	032
	DNA 免疫抗体制备	033
	小鼠单抗抗体对开发	034
	大规模单克隆抗体生产服务	036

普健生物可以提供从抗原制备，到抗体生产，标记，检测，测序一站式服务。

普健生物可以提供多克隆抗体的制备，同时可以提供鼠 / 兔单克隆抗体的制备。

普健生物可以提供两种单克隆抗体制备方法：

1. 传统的免疫，融合筛选方法
2. 通过分子生物学方法，PCR 获得目的基因，基因克隆，构建表达载体，以蛋白表达的方式制备单克隆抗体

普健生物可以提供抗体测序服务



快速兔单克隆抗体定制

服务简介

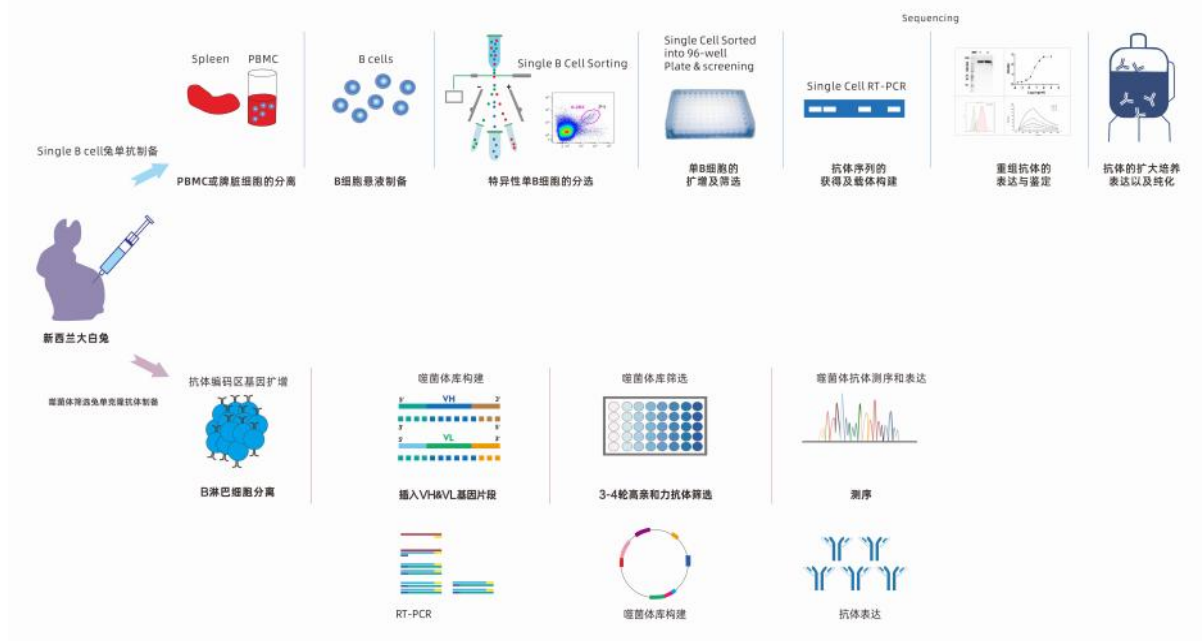
兔单克隆抗体具有高亲和力、高特异性、高灵敏度，可识别更多新型表位，容易人源化等特点，兔单克隆抗体开发治疗用于抗体药物的前景非常广阔，兔单抗药物的上市，揭开了抗体药物研发的新篇章，发展潜力不可限量。

普健生物兔单克隆抗体的制备服务运用噬菌体展示技术，可直接在高库容的兔源天然抗体库淘选多种靶点。或根据客户需求，定制构建针对某一种或某几种靶蛋白的兔免疫抗体文库，筛选高亲和力兔单克隆抗体序列，最终重组表达成完整的兔单抗。

服务优势

多样性百亿级别兔源 scFv 天然抗体文库：

1. **定制化抗体文库：**改良版两步法建库方案可最大限度的减少错误序列，保证抗体库多样性和高库容
2. **高质量多维度文库 QC 报告：**全面体现文库多样性分布情况
3. **可接受多类型靶标抗体筛选：**蛋白，多肽，小分子，细胞表面蛋白等
4. **可根据项目要求定制淘选方案：**可提供固相淘选，液相淘选和细胞淘选三种淘选方案，也可根据具体项目要求组合使用，最大化增加淘选成功率



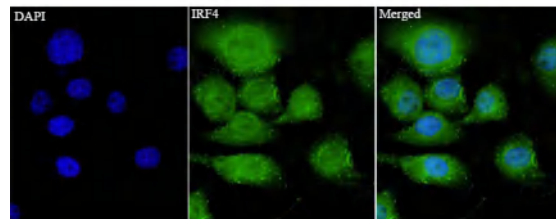
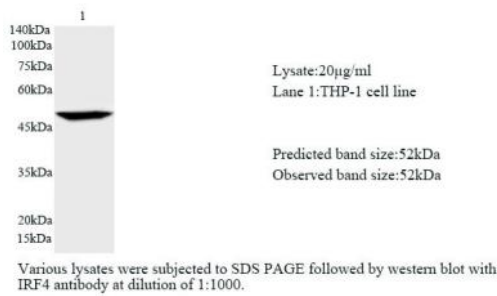
快速兔单克隆抗体开发技术路线

服务内容

服务项目	客户提供	服务内容	服务周期	交付内容
快速兔单克隆 抗体制备技术	噬菌体筛 选路线	天然库筛选	3-4 周左右	交付 1-3 条序列
		免疫建库及筛选 QC 分析	10-14 周	噬菌体免疫文库 (大于 5×10^8 pfu 的 phage) 阳性菌株 5-10 株 抗体序列 5-10 条 技术服务报告
	single B 筛选路线	抗原制备 动物免疫 脾细胞分离及阳性 B 细胞筛选 阳性克隆扩增及重组表达 重组抗体大量表达	20-24 周	100 μ g/ 株单抗 pUC 质粒和序列 3 株的抗体序列 技术服务报告

注：也可直接选取普健噬菌体天然免 scFv 文库直接淘选，接受抗原类型包括蛋白，多肽，小分子和细胞表面蛋白。
可选服务：抗原制备 / 全长和抗体片段生产 / 亲和力排序 / 亲和力成熟 / 双特异性抗体开发 / 稳定细胞株构建

案例展示



Immunofluorescent analysis of Hacat cells using IRF4 antibody at dilution of 1:100 and Alexa Fluor-488 conjugated Affinipure Goat anti rabbit IgG(H+L).





鼠单克隆抗体的制备

服务简介

杂交瘤技术是抗体发现主要途径之一，在科研抗体开发和抗体药物发现中都扮演着重要角色。杂交瘤细胞既能无限增殖又能产生特异性抗体，可用来制备高纯度、污染少、可重复的单克隆抗体。

普健生物提供优质的杂交瘤细胞开发服务，提供多种抗原免疫方式，经融合、筛选、检测，最终得到高质量的杂交瘤细胞。

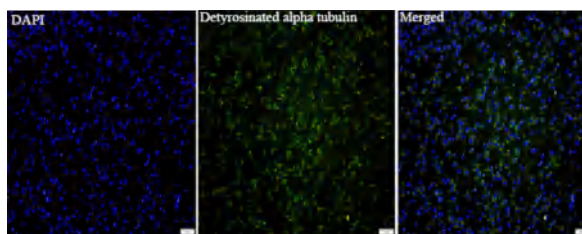
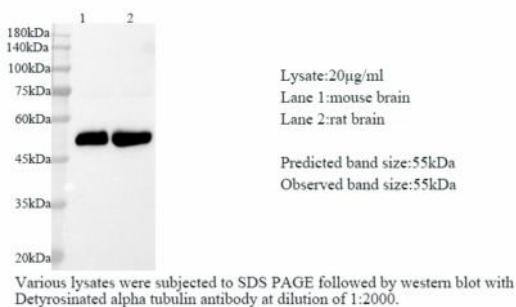
服务优势

1. 免疫抗原类别：多肽、重组蛋白（五大表达系统）、小分子和 DNA 免疫等多种方案
2. 一站式服务：提供从基因序列到杂交瘤细胞开发及鉴定的整体解决方案
3. 成功率高：单抗项目 2000+，成功率高达 95.4%
4. 个性化定制：提供 IHC/IF/FC 等应用级别抗体开发服务
5. 完善的抗体质量评价体系：WB/IHC/IF/FC 等多种检测方式
6. 专业技术团队：法国首席科学家带队，十余年抗体研发经验
7. 下游对接服务：杂交瘤细胞测序，抗体人源化，重组抗体表达，化学发光应用抗体对筛选及大规模抗体生产等服务

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗原制备（抗原表达与纯化） 动物免疫（抗原免疫） 杂交瘤细胞株构建（融合细胞，选择培养） 筛选 抗体生产及鉴定（Protein A/G 纯化，SDS-PAGE 及 UV 分析，ELISA 检测）	抗原	抗原制备 小鼠免疫 融合 筛选单克隆细胞株 大规模抗体的制备	4-6 月	纯化单抗（量可定制） 杂交瘤细胞株（数量可定制） 抗原小样 技术服务报告

案例展示

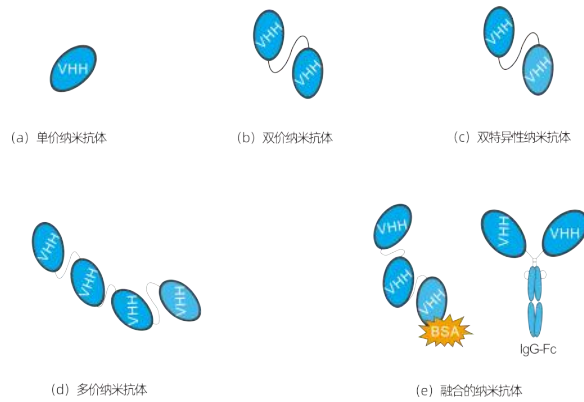


Immunofluorescent analysis of mouse brain using Detyrosinated alpha tubulin antibody at dilution of 1:100 and Alexa Fluor-488 conjugated Affinipure Goat anti rabbit IgG(H+L).

纳米抗体（VHH）筛选

服务简介

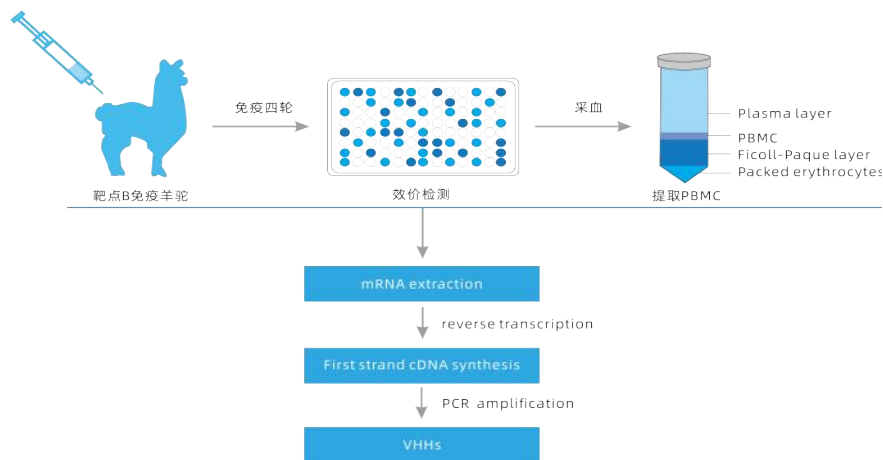
纳米抗体（Nanobody, Nb），即重链单域抗体 VHH (variable domain of heavy chain of heavy-chain antibody)，无轻链及 CH1 区，主要优点是分子小、稳定性高、免疫原性低、易于人源化、易于连接，并可通过多种途径进行给药。此外，在分子设计时可选择加入与人血清白蛋白结合的功能区，将半衰期延长至 2 -3 周，并且可以通过白蛋白将药物运输至靶位点。这些特点使得 VHH 在基础研究、诊断及治疗上具有极大的应用价值。



纳米抗体类型

服务优势

1. 库容大：近千亿级别天然库
2. 淘选周期短：最快在 2 周内可完成针对各类靶点的特异性纳米抗体快速筛选
3. 亲和力高：抗体亲和力可达 10^{-9} M 级别。
4. 样本来源丰富：免疫库源自百余只不同种类的驼类样本 - 羊驼 (Alpaca)、骆驼 (Camel)、美洲驼 (Llama)，提供更高抗体多样性
5. 超高品质：插入正确率 100%，序列正确率 97%，随机选取 200 个克隆测序，均无重复序列



服务流程



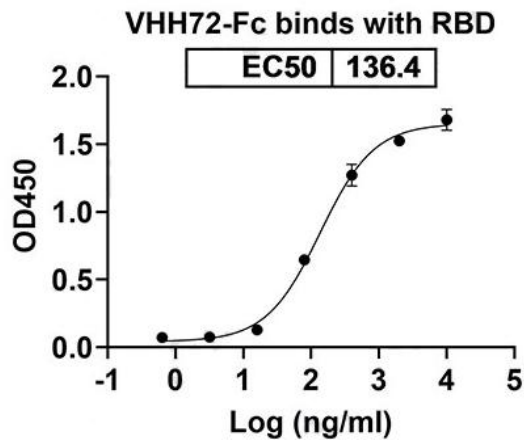
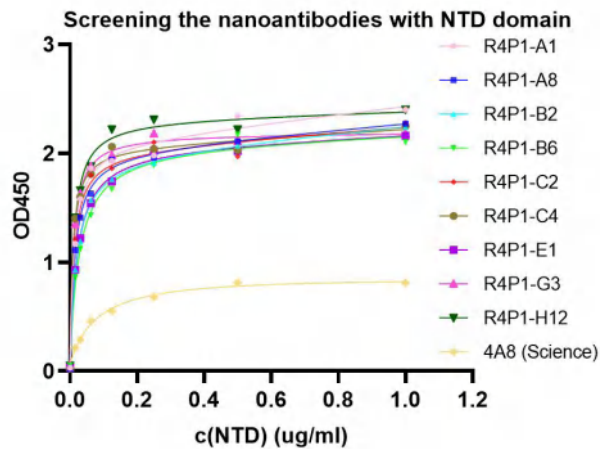


服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗原制备 (可选) 免疫: 免疫羊驼并测定 ELISA 效价 噬菌体文库构建 (可选) 噬菌体文库淘选 VHHFc 抗体生产 (可选做) 亲和力排序 (选做)	抗原	免疫原检测, 免疫前采血 皮下多点免疫 3-5 次 血清效价检测 免疫原检测, 免疫前采血 采集 50ml 外周血, 用于纳 米抗体库构建	2-4 周 (天然库淘选) 10-14 周 (免疫建库 淘选)	噬菌体免疫文库 (大于 5×10^8 pfu 的 phage) 阳性菌株 1-5 株 VHH 序列 1-5 条 技术服务报告

案例展示

普健生物构建了千亿级纳米抗体文库, 并从文库中筛选出针对新冠 NTD domain 的纳米抗体。



多克隆抗体制备

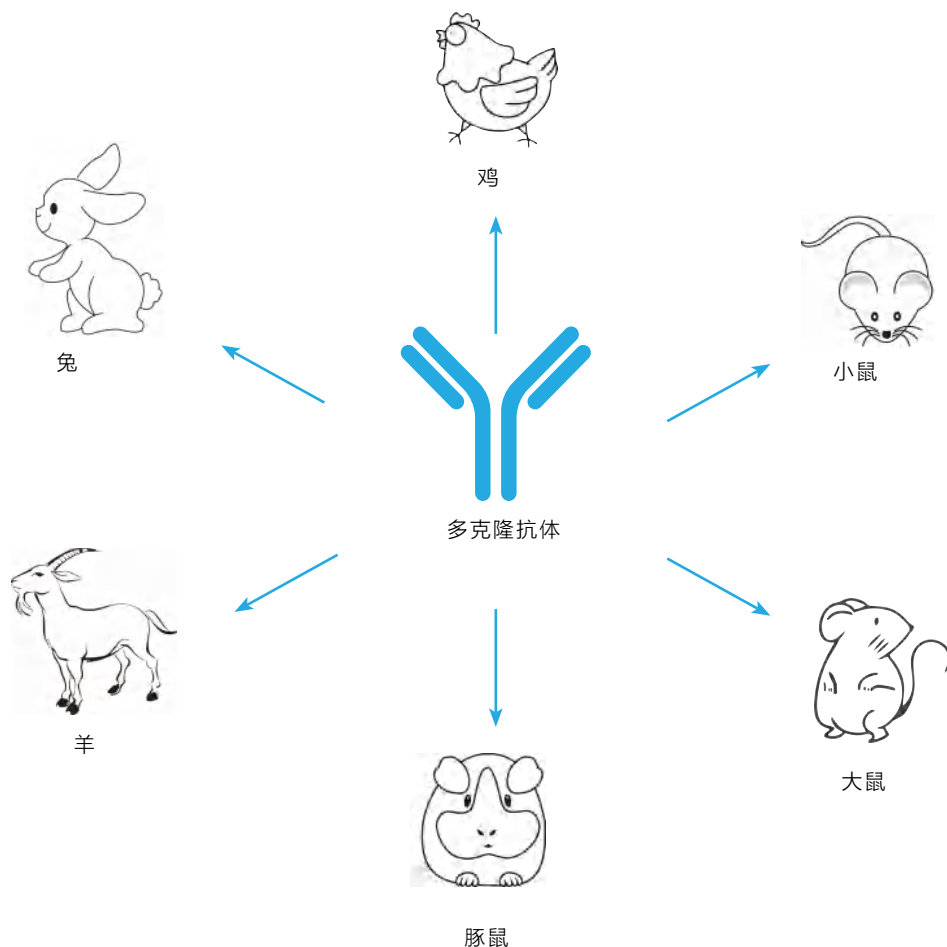
服务简介

多克隆抗体存在于免疫动物的血清中，可以从血清中纯化获得。多克隆抗体能识别多个抗原位点，可用于多种免疫学反应，并且制备时间短，成本低，因此被广泛应用于免疫学研究领域和免疫学诊断领域。

近年来，鸡多抗由于其特异性好被关注，鸡多克隆抗体主要成分为 IgY，主要分布在鸡血清和鸡蛋中。类似于 IgG，IgY 包含两条重链和两条轻链，成“Y”字形结构，含有两个抗原结合位点。IgY 与 IgG 的不同在于两者之间几乎不存在交叉反应，这一特点让鸡多克隆抗体具有良好的免疫学效果，例如可以有效降低免疫学实验背景，使鸡源多抗成为更方便的实验工具。鸡 IgY 多克隆抗体制备是使用抗原对鸡进行免疫，激活其 B 淋巴细胞，并在其分泌的抗体转移到卵黄后，通过收集鸡蛋进行纯化从而获取抗体。

相比于其他物种的抗体，鸡多克隆抗体具有以下优势：

1. 哺乳动物高度保守的基因产物能够引起鸡强烈的免疫反应并产生抗体
 2. 鸡抗体适用于多重免疫标记实验，由于 IgY 与 IgG 不会产生同源交叉反应，并且 IgY 缺少 Fc 片段，不会结合细胞的 Fc 受体
 3. 鸡多克隆抗体的生产便捷，只需收集免疫之后的母鸡鸡蛋，从鸡蛋中进行抗体纯化，消耗成本低
 4. 所需抗原量小，单位产量高，特异性好，性质稳定易储存
- 普健生物能提供包括兔、小鼠、大鼠、豚鼠、羊、鸡的多克隆抗体定制服务





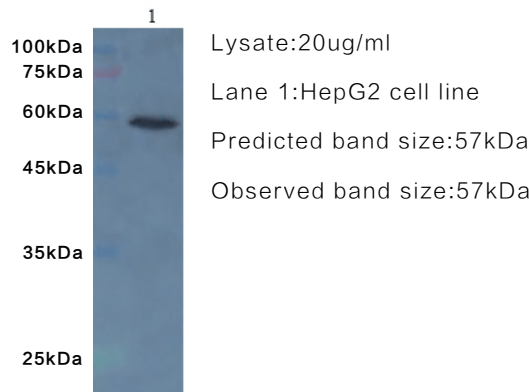
服务优势

1. 抗原制备经验丰富：五大表达系统进行蛋白抗原制备，多肽及小分子偶联技术齐全，细菌 / 病毒样品处理经验丰富
2. 免疫流程完善：经过优化的免疫方案适应多种不同类型抗原的免疫需求，免疫周期缩短可快速交付
3. 纯化质检衔接紧密：从采全血到交付质检合格抗体只需 7 天
4. 涵盖多种宿主：羊多抗，鸡多抗

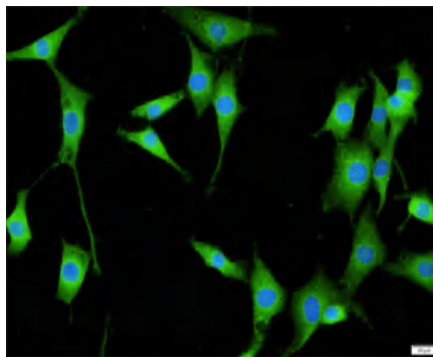
服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
多克隆抗体制备	抗原信息	抗原制备 免疫 抗血清制备 抗体纯化	6-8 周	抗原样品：蛋白 / 多肽 / 小分子 未纯化抗血清小样 所有纯化抗体 技术服务报告

案例展示



Various lysates were subjected to SDS-PAGE followed by western blot with AKT2 antibody at dilution of 1:1000.



Immunofluorescent analysis of NIH/3T3 cells using AKT2 antibody at dilution of 1:50 and Alexa Fluor-488 conjugated Affinipure Goat anti rabbit IgG(H+L).

修饰性（磷酸化，甲基化，乙酰化）抗体制备

服务简介

磷酸化：

蛋白质转录后修饰，特别是蛋白质的磷酸化，参与了体内几乎所有的细胞活动，因此检测磷酸化蛋白对研究多种发育障碍及人类疾病至关重要。磷酸化抗体可以特异性识别磷酸化的氨基酸位点。磷酸化抗体可以用于区分蛋白质的磷酸化及非磷酸化的存在形式，可用于对磷酸化蛋白进行定性、定量分析。

甲基化：

蛋白质甲基化也是翻译后修饰的一种形式，一般指精氨酸或赖氨酸在蛋白质序列中的甲基化。在组蛋白中，蛋白质甲基化是被研究最多的一类，某些组蛋白残基通过甲基化可以抑制或激活基因表达，与癌症、衰老、老年痴呆等许多疾病密切相关，是表观遗传学的重要研究内容之一，因此检测甲基化蛋白意义重大。甲基化抗体可以特异性识别甲基化的氨基酸位点，可以用于区分蛋白质的甲基化及非甲基化的存在形式，可用于对甲基化蛋白进行定性、定量分析。

乙酰化：

蛋白质乙酰化是指在乙酰基转移酶的作用下，在蛋白质赖氨酸残基上添加乙酰基的过程，是细胞控制基因表达，蛋白质活性或生理过程的一种机制。乙酰化抗体可以特异性识别乙酰化的氨基酸位点，可以用于区分蛋白质的乙酰化及非乙酰化的存在形式，可用于对乙酰化蛋白进行定性、定量分析。

服务优势

1. 免费的抗原设计：只需要客户给定抗原蛋白序列和修饰位点
2. 稳定的多肽合成技术：磷酸化，甲基化，乙酰化
3. 可靠的抗体纯化技术：修饰性与非修饰性多肽两轮亲和纯化
4. 多抗 / 单抗可自由选择

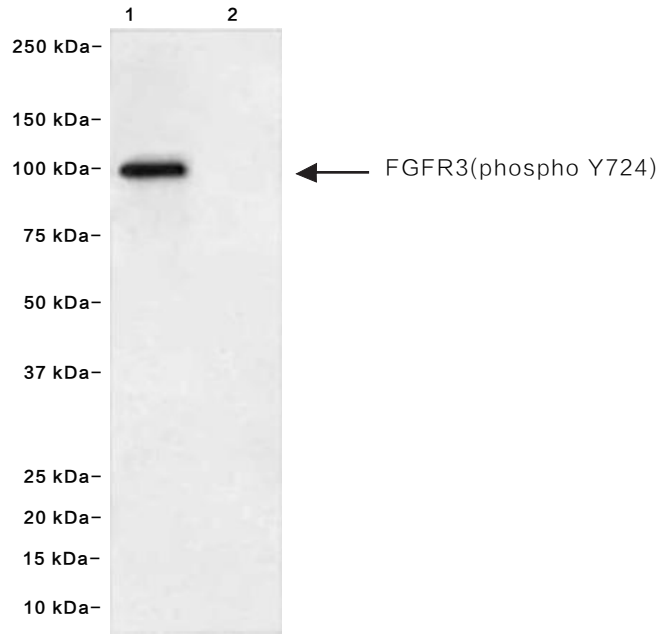
服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
修饰性多肽设计与合成 动物免疫 多肽抗原效价检测 抗体纯化（多抗）/ 融合、 筛选抗体生产（单抗）	抗原	抗原设计 多肽合成 动物免疫 抗血清检测 抗体纯化 抗体验证	6-8 周	多肽 未纯化抗血清小样 纯化后抗体（多抗） 大 / 小鼠单克隆抗体（单抗） 单克隆细胞株（1-3 株） 技术服务报告





案例展示



Pervanadate: + -

lane1: cell lysate treated with pervanadate

lane2: cell lysate untreated

小分子抗体制备

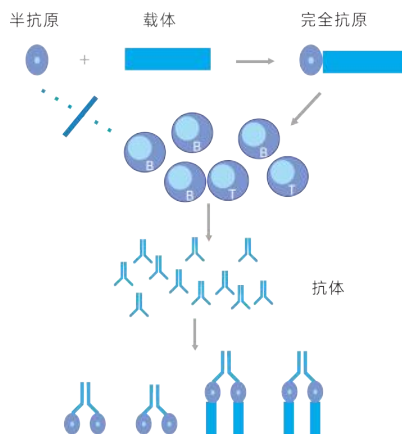
服务简介

小分子抗体在食品安全检测、疾病相关代谢中间体检测，毒品、兴奋剂检测等多种领域被广泛地应用，普健生物可以提供小分子改造、偶联、抗体制备、试剂盒制备全流程技术服务。

抗原 (Ag) 是指所有能诱导机体发生免疫应答的物质；即能被 T/B 淋巴细胞表面的抗原受体 (TCR/BCR) 特异性识别与结合，活化 T/B 细胞，使之增殖分化，产生免疫应答产物 (致敏淋巴细胞或抗体)，并能与相应产物在体内外发生特异性结合的物质；因此，抗原具备两个重要特性：免疫原性 (immunogenicity) 和免疫反应性 (immunoreactivity)。免疫原性即指抗原诱导机体发生特异性免疫应答，产生抗体或致敏淋巴细胞的能力；免疫反应性是指能与相应的免疫效应物质 (抗体或致敏淋巴细胞) 在体内外发生特异性结合反应的能力。抗原分为完全抗原和半抗原。

完全抗原 (complete antigen) 简称抗原。是一类既有免疫原性，又有免疫反应性的物质。如大多数蛋白质、细菌、病毒、细菌外毒素等都是完全抗原。

半抗原 (hapten) 是具有免疫反应性，而无免疫原性的物质，故又称不完全抗原。小分子属于半抗原，需要与大分子物质 (载体) 连接后，形成免疫原性，可以诱导产生免疫应答，产生抗体。



服务优势

1. 免费的抗原评估 (是否需改造才能偶联)：只需要客户提供 CAS 号或小分子结构式
2. 稳定的小分子改造及偶联技术
3. 可靠的抗体纯化技术：小分子偶联 BSA 作亲和纯化柱
4. 多抗 / 单抗可自由选择

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
小分子改造及合成，偶联载体蛋白 免疫 (兔 / 小鼠 / 大鼠) 效价检测 抗体纯化 (多抗) / 融合, 筛选, 抗体生产 (单抗) 抗体质检 (要求抗体可竞争识别小分子)	抗原 (纯度不低于 90%)	抗原合成 抗原鉴定 免疫 融合、筛选、腹水生产 (单抗 / 多抗) 单抗 / 多抗纯化	4-8 个月	小分子偶联载体蛋白小样 未纯化抗血清小样 (多抗) 纯化的所有抗体 (多抗) 大 / 小鼠单克隆抗体 (量可定制) 单克隆细胞株 (数量可定制) 实验报告





DNA 免疫抗体制备

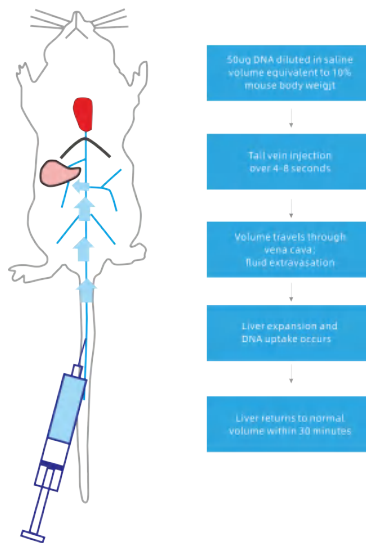
服务简介

经典抗体开发流程往往需要表达重组蛋白，但针对某些蛋白特别是多次跨膜 GPCR 蛋白和离子通道蛋白，想要进行全长表达非常困难，而通过 DNA 免疫产生的抗体能识别蛋白构象表位的概率要大很多，主要原因在于外源基因可以在体内直接表达合成具有天然构象的全长蛋白，从而引起对应的免疫应答。

服务优势

1. 不需要表达或纯化抗原（特别是某些致病类抗原），可避免生物安全性问题
2. 可以高效地测试不同的抗原序列的免疫效果
3. 针对某些突发传染性疾病，一旦基因序列被确认，就可快速开发对应抗体
4. 可开发针对构象表位的抗体
5. 免疫宿主广泛，包括小鼠、兔子

DNA 免疫小鼠单抗制备



小鼠尾静脉注射免疫操作流程

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗原制备：基因合成及亚克隆、低内毒质粒制备 小鼠免疫：第一种方法是将人工合成 DNA 质粒进行注射免疫，在注射缓冲液中通过加入脂质体或者纳米粒子以增强免疫效果；第二种方法是基于物理外力作用的基因枪技术和电穿孔技术 细胞融合、筛选（流式筛选）、检测及分型 抗体生产	in silico DNA 序列	基因合成及验证 DNA 免疫 细胞融合及筛选 亚克隆，扩增，冻存 单克隆抗体制备（可选）	6-8 周	抗原质粒 5ug 纯化单抗（量可定制，纯度 >95%） 杂交瘤细胞株（数量可定制） 实验报告

小鼠单抗抗体对开发

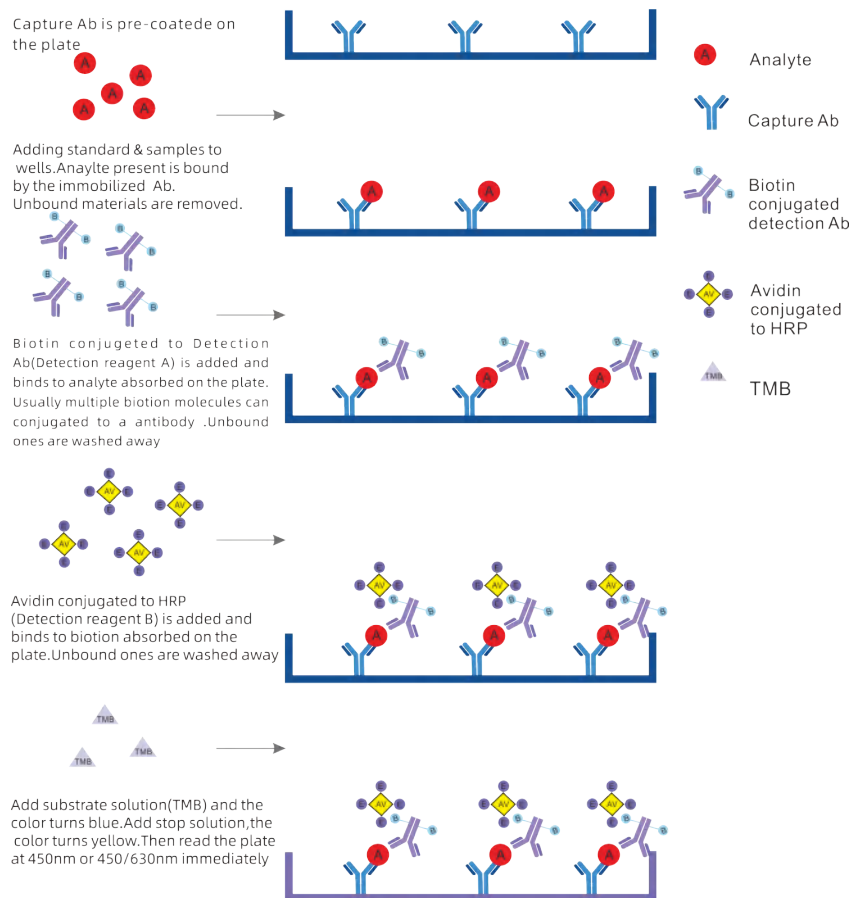
服务简介

Sandwich ELISA，其基本原理是将一定量的包被抗体以物理吸附的方法固定于聚苯乙烯微孔板表面，加入封闭蛋白封闭未结合位点，再加入含有抗原的待测样品，通过加入酶标记特异性抗体后用 TMB 底物显色，微孔板中颜色的深浅与待测物的浓度呈正相关。该方法适用于测定二价或二价以上的大分子抗原，不适用于测定半抗原及小分子单价抗原，因其不能形成两位点夹心。

普健生物可提供 Sandwich ELISA 法中的抗体对制备服务

服务优势

1. 五大蛋白表达平台助力抗原制备
2. 有自主研发试剂盒经验
3. 可个性化定制实验方案
4. ELISA、化学发光平台等多种应用筛选



服务流程

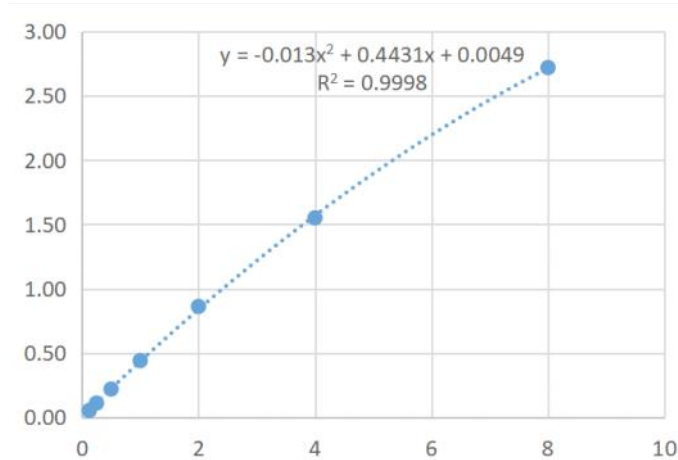




服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗原制备 (可选) 免疫 筛选 单抗纯化 抗体标记 抗体配对	目标蛋白序列	抗原制备: 多肽抗原 / 蛋白抗原 免疫: 小鼠 / 大鼠 融合及筛选 亚克隆及筛选 生产单抗 (5-10 株) 抗体标记 biotin 配对实验: 针对重组蛋白	4-6 月	纯化单抗 (量可定制) 杂交瘤细胞株 (至少一对细胞株) 抗原小样 实验报告

案例展示



大规模单克隆抗体生产

服务简介

大规模单克隆抗体的生产目前主要有两种方式，一是腹水制备法，另一种是转瓶培养法。

腹水制备法：将杂交瘤细胞株进行体外培养至一定浓度，再将杂交瘤细胞注入小鼠腹腔中，产生腹水，从腹水中纯化单克隆抗体。每只小鼠可以产生 3~8 mL 腹水，抗体含量可以达到 1~10 mg/mL。腹水制备的周期为 3~4 周。腹水制备法具备成本低、产量高，时间快等优点，是目前主要的大规模抗体生产方式。

转瓶培养法：将杂交瘤细胞进行大规模体外培养，从培养基中纯化抗体。抗体含量可以达到 20~80 mg/L。转瓶制备法具有抗体品质高、不含小鼠杂蛋白，不含动物病毒等优点。

普健生物提供优质的单克隆抗体生产及纯化服务

服务优势

1. 有专业的 SPF 级动物实验室及大规模无菌转瓶细胞培养箱
2. 快速，高效生产腹水和杂交瘤培养上清
3. 专业的抗体纯化团队提供后续腹水和杂交瘤培养上清纯化服务

服务内容

服务内容	客户提供	服务周期	交付内容
Balb/c 小鼠腹水生产纯化	杂交瘤细胞活力至少大于 80% 的杂交瘤细胞株	6-8 周	纯化好的单克隆抗体，纯度 90% 以上 最终纯化实验报告
细胞转瓶培养纯化	杂交瘤细胞初始培养基品牌，货号，配制方法		





抗体药物研发平台 3

Antibody drug development platform

NEXT	噬菌体展示抗体发现技术平台	038
	杂交瘤技术抗体发现平台	041
	Xten™ Mab Single B 兔单克隆抗体开发	042
	杂交瘤测序	044
	抗体人源化	045
	双特异性抗体	047
	抗独特型抗体制备	049

普健生物的抗体药物研发平台主要包括：

1. 噬菌体展示：利用噬菌体展示技术，普健生物提供构建噬菌体展示抗体文库、噬菌体展示多肽文库、抗原表位筛选、抗体亲和力成熟等技术服务。同时普健生物具有鼠源天然抗体文库、兔源天然抗体文库、纳米抗体天然抗体文库、重组全人源噬菌体抗体文库等。

2. 抗体药物的表达，抗体人源化及双特异性抗体。普健生物的抗体技术团队具有丰富的抗体序列设计、表达经验，团队的技术专家曾经主持研发成功上市的治疗性抗体药物。

噬菌体展示抗体发现技术平台

服务简介

噬菌体展示抗体技术将基因型和表型统一于一体，将选择能力与扩增能力结合起来，具有强大的筛选能力，能够在体外模拟体内的抗体生成过程，可以不经杂交瘤途径，甚至不经过免疫就可以制备和生产单克隆抗体。

噬菌体展示技术的出现为全人重组抗体提供了一条简便、快捷的基因工程抗体制备路线，是全人重组抗体制备发展史上重要的转折点。

近年来，单域抗体（SdAb）的关注度非常高，单域抗体为驼类和软骨鱼类中天然存在的仅由两条重链组成的特殊抗体，只包含一个重链可变区（VHH, Variable Domain of Heavy Chain Antibody）和两个常规的CH2与CH3区。单域抗体通过重链上的一个可变区（VHH）结合抗原，该可变区可以单独稳定地在体外存在，被称为驼类单域抗体（SdAb）或者纳米抗体（nanobody）。纳米抗体晶体宽为2.5nm，长4nm，分子量仅为传统完整抗体的1/10（约15kD）但依然具有完整的抗原识别能力，得益于纳米抗体微小的结构、完整的抗原识别能力以及噬菌体筛选技术，纳米抗体表现出高亲和力、高特异性、强穿透性和易于改造和表达等特点，并且由于可以获得抗体完整序列，纳米抗体可以通过体外重组表达高质量稳定生产，有效避免传统抗体的批次间差异问题。

纳米抗体特点

1. 有更长的CDR3区（纳米抗体CDR3通常由16~24个氨基酸组成，传统单抗CDR3仅有7~12个氨基酸），与抗原特异性结合能力更强
2. 结构简单，易于基因工程改造
3. 制备简单，易于工业化放大生产
4. 易于人源化

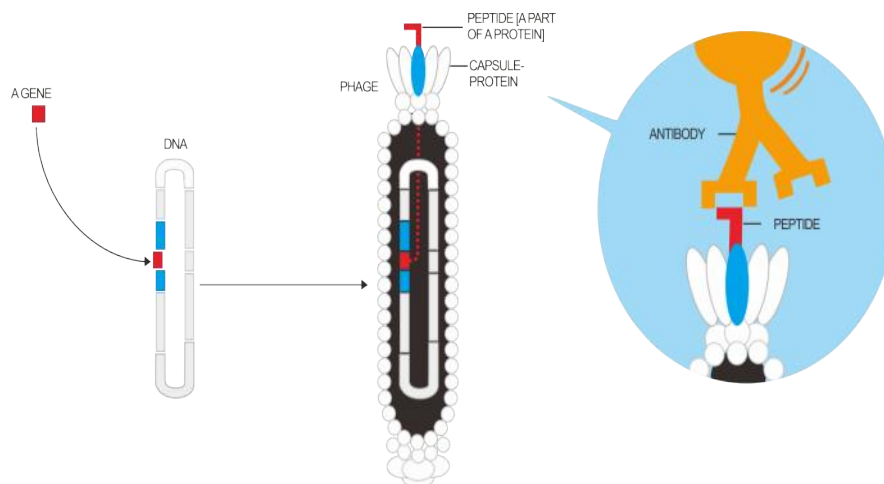
噬菌体抗体库的分类

抗体库是编码特性未知抗体的抗体基因的巨大集合（通常大于 10^{10} ）。抗体库是通过噬菌体展示和其他体外选择技术来发现抗体的重要来源，其设计是成功发现抗体的关键。

随机肽库：将化学合成的随机寡核苷酸序列与噬菌体的表面蛋白基因融合，在噬菌体表面表达出各种氨基酸组合的随机序列短肽。利用噬菌体展示随机肽库可以高通量筛选各种抗原的抗原表位

免疫库：免疫库由经过免疫（包括疫苗注射、微生物感染、自身免疫疾病、肿瘤等）后的供体B淋巴细胞的抗体基因构建。对于特定免疫抗原的抗体淘选的效率较高，但一般仅适用于一种特异性抗体的选择，库容量要求不高，一般 10^6 – 10^8 的库容量就可满足需要

天然库：采用不经免疫的人或动物来源的外周血淋巴细胞、骨髓、脾细胞的B细胞作为材料，进行基因扩增，但亲和力通常较低。骨髓内和骨髓外所有抗体基因都包含在内，所构建的抗体库适用于所有抗原所对应的抗体的选择，库容量要求较高，最小需要达到 10^9 ，因为目前估算的自然界的抗原种类在这个数量级上



噬菌体展示技术原理



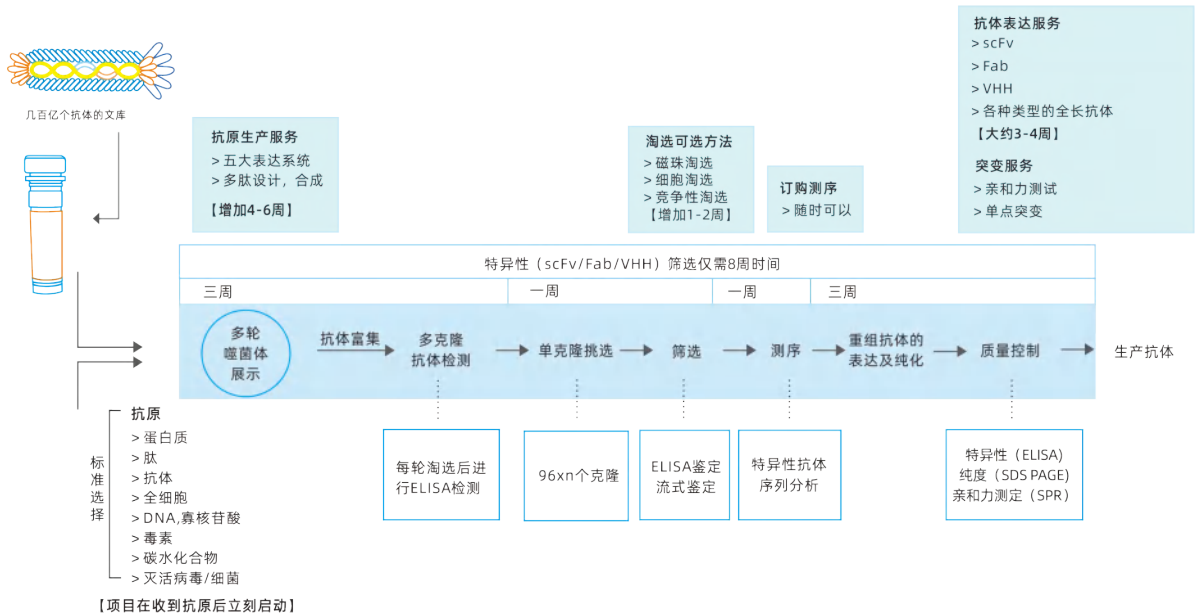


	免疫血清	杂交瘤技术	噬菌体展示技术
抗体形式	多克隆抗体	单克隆抗体	单克隆基因重组抗体
宿主细胞	N/A	杂交瘤	E.coli/293/CHO
筛选范围	N/A	$\sim 10^3$	10^7-10^9
时间	几个月	几个月	几周
操作	简单	繁杂	相对简单
免疫	必须	必须	可避免
人源抗体	否	否	可以
费用	低	高	适中
生产量	有限	有限	无限
基因获取	N/A	再克隆	直接
应用前景	有限	有限	广阔

与传统抗体技术的比较

服务优势

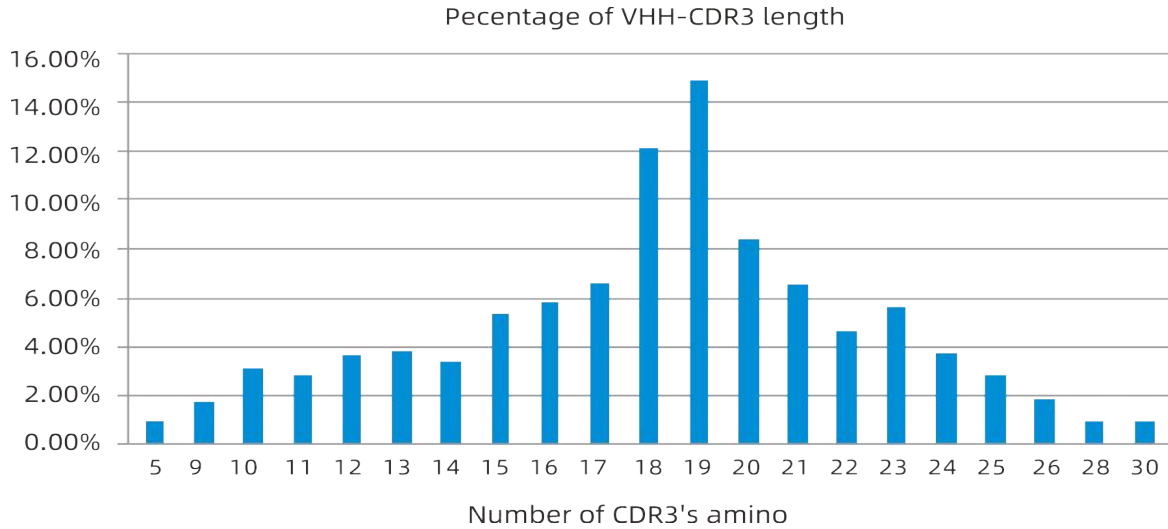
1. 丰富的噬菌体抗体技术经验，五年以上噬菌体抗体开发，交付上百个噬菌体展示抗体开发项目
2. 具有全人源重组抗体库，库容高达千亿级别 (10^{11} pfu)，两步建库法，保证了文库的多样性，抗体库片段插入正确率高；可以两周拿到全人源重组抗体
3. 可以构建多物种（人源、小鼠、兔子、羊驼等）抗体文库
4. 可以构建多种类型（scfv、Fab、VHH 等）的抗体文库



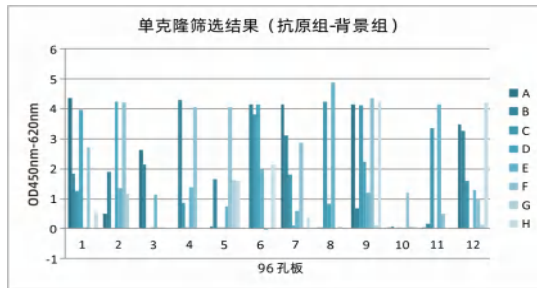
服务流程

☀️ 案例展示

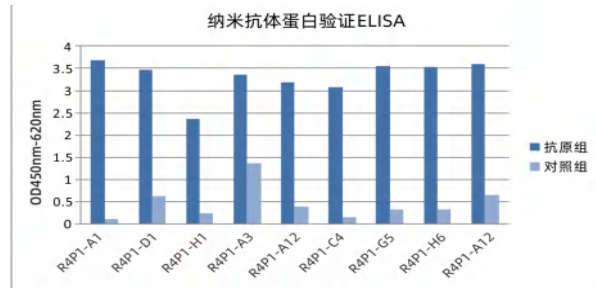
根据文库中数百个随机抗体序列分析，其 CDR3 长度基本符合正态分布，跟文献中报道的自然 VHH 抗体 CDR3 长度分布相符。



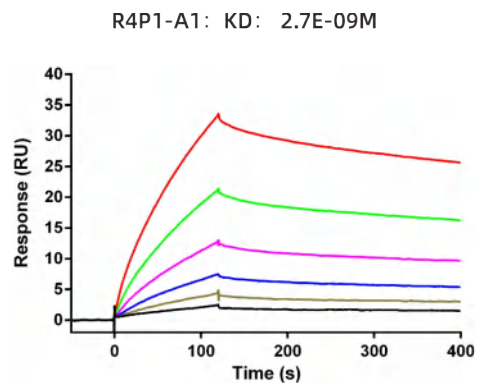
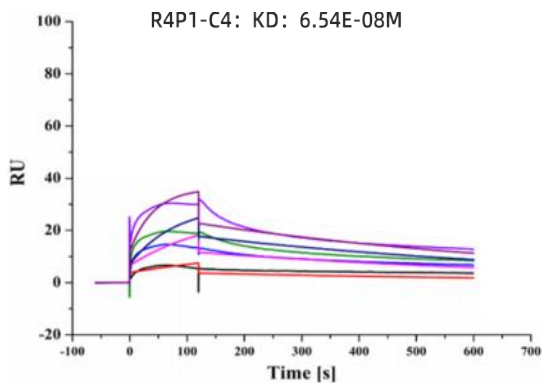
靶点 A 蛋白用天然纳米抗体库快筛，经 4 轮淘选后，挑选的 96 个单克隆中有 56 个阳性克隆（差值均大于 0.5），阳性率为 58%



将最优的九条抗体序列表达成可溶 VHH 抗体，再次验证：



挑选背景值较低的抗体蛋白进行亲和力测定，结果如下：





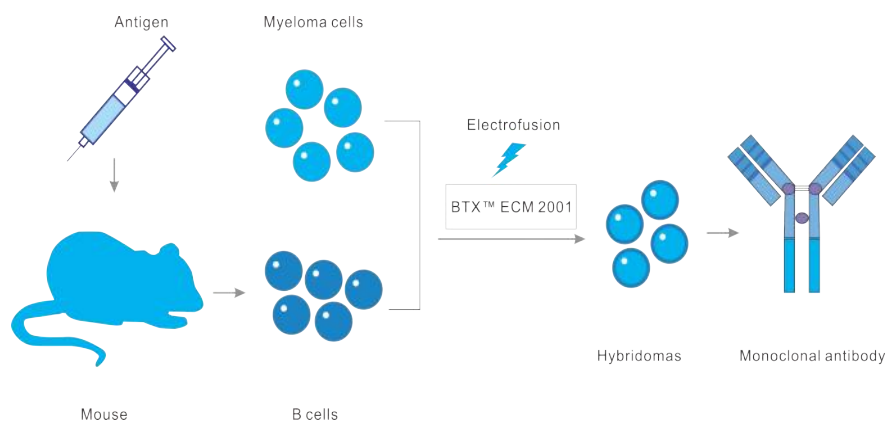
杂交瘤技术抗体发现平台

服务简介

杂交瘤技术是指，通过 B 细胞与骨髓瘤细胞融合，通过筛选，亚克隆建立杂交瘤细胞系，用于生产大量单克隆抗体。

单克隆抗体具有高度专一性，一种单克隆抗体只能识别一种特定的抗原决定簇；因其特异性强，被广泛应用于生物学，药学，医学等领域，具有极其远大的应用前景，杂交瘤抗体技术起始于上个世纪 80 年代，技术成熟，被广泛地应用于单克隆抗体的开发。

普健生物长期为国内外科研机构，IVD 企业，抗体药物企业提供抗体发现技术服务，积累了丰富的抗体开发经验，可以提供 DNA 免疫，多肽、蛋白免疫，小分子免疫；高通量定制化抗体筛选方案；ELISA、WB、IF、IHC、FC、Biacore 等多样性高通量检测平台；以及杂交瘤测序技术和重组抗体表达服务。



服务优势

1. 免疫方式：多肽、重组蛋白（五大表达系统）、小分子和 DNA 免疫等多种方案
2. 一站式服务：提供从基因序列到杂交瘤细胞开发及鉴定的整体解决方案
3. 高效电融合技术：美国 BTX 公司 ECM 2001 电融合仪平台，高效、无毒
4. 成功率高：单抗项目 10000+，成功率高达 95.4%
5. 个性化定制：提供 IHC/IF/FC 等应用级别抗体开发服务
6. 完善的抗体质量评价体系：WB/IHC/IF/FC 等多种检测方式
7. 专业技术团队：十余年抗体研发经验，拥有多项发明专利

8. 下游对接服务：杂交瘤细胞测序、抗体人源化、重组抗体表达、噬菌体展示、化学发光应用抗体对筛选及大规模抗体生产等服务

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗原制备（可选） 小鼠免疫 细胞融合、筛选、检测及分型 小规模抗体生产（1mg-5mg） 大规模抗体生产（100mg-100g）	纯化后抗原。抗原纯度 85% 以上，总量 3mg（含 2.5mg 免疫蛋白和 0.5mg 筛选蛋白） 表达质粒，质粒信息，克隆方案 cDNA 模板，需要提供模板和序列信息	详询	20 周	单克隆细胞株 1-3mg 单克隆抗体 项目报告及 QC 检测

Xten™ Mab Single B 兔单克隆抗体开发

服务简介

兔单抗与传统的杂交瘤鼠单抗相比具有更好的抗原识别功能。由于兔骨髓瘤细胞株受专利保护，无法利用杂交瘤技术开发兔单抗，普健生物建立了噬菌体展示抗体文库技术平台以及新型的 Xten™ Mab Single B 兔单克隆抗体开发技术平台。

单个 B 细胞抗体制备技术是近年来新发展的一类快速制备单克隆抗体的技术，是根据每一个 B 细胞只含有一个功能性重链可变区 DNA 序列和一个轻链可变区 DNA 序列，以及每一个 B 细胞只产生一种特异性抗体的特性，从免疫动物脾组织或外周血中分离抗原特异性 B 细胞，通过单细胞 PCR 技术从分泌抗体的单个 B 细胞中扩增 IgG 重链和轻链可变区基因，然后在哺乳动物细胞内表达并获得具有生物活性的单克隆抗体。

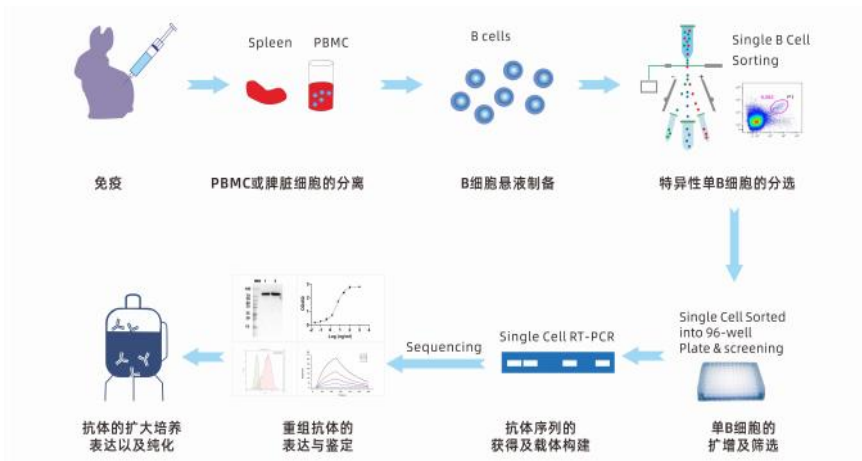


Fig 1. Xten™ Mab 兔单克隆抗体开发流程

服务优势

- 1. 高特异性:** 与小鼠和其他啮齿动物相比，兔免疫系统更优秀，产生的抗体特异性更强，亲和力更高
- 2. 高稳定性:** 与常规小鼠生产的单克隆抗体相比，兔 IgG 结构稳定性高
- 3. 高亲和力:** 兔的 B 细胞成熟过程产生的亲和力是啮齿动物的 10-100 倍
- 4. 高多样性:** 兔拥有丰富的 B 细胞反应库，其产生的抗体在表位变异、突变、构象变化等方面优势显著，且多样性高

服务内容

服务内容	客户提供	服务内容	服务周期	交付内容
Xten™ Mab 兔单克隆抗体开发	抗原序列	抗原制备 动物免疫 脾细胞分离及阳性 B 细胞筛选 阳性克隆抗体可变区扩增及测序分析 重组抗体表达及纯化	16-20 周	100 μg/ 株单抗 pUC 质粒 3 株最优的抗体序列 技术服务报告





案例展示

利用 B 细胞分选富集策略，在流式分选设备的支持下，有效富集抗原特异性 B 细胞，提高 B 细胞体外培养的成活率，保留 B 细胞的多样性，可开发出不同应用需求的抗体。

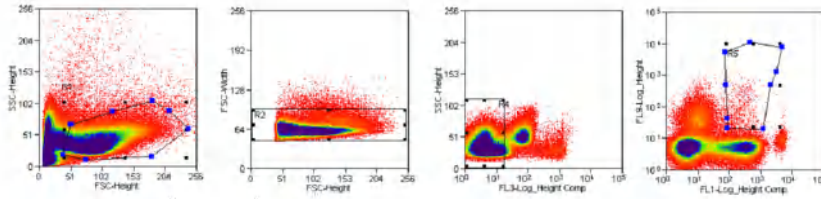


Fig 2.Xten™ Mab 兔单克隆抗体开发之 B 细胞筛选

使用普健生物 XtenCHOTM 高密度瞬转表达系统，体外重组表达部分阳性抗体，纯化后进行功能验证。

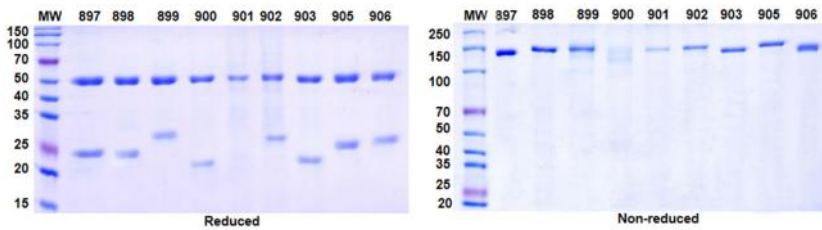


Fig 3. Xten™ Mab 兔单克隆抗体开发之重组抗体表达

	A	B	C	D
EC50(ng/ml)	6.897	145	15.48	23.43

重组表达纯化后的抗体可进行 ELISA、WB、流式等功能性分析。

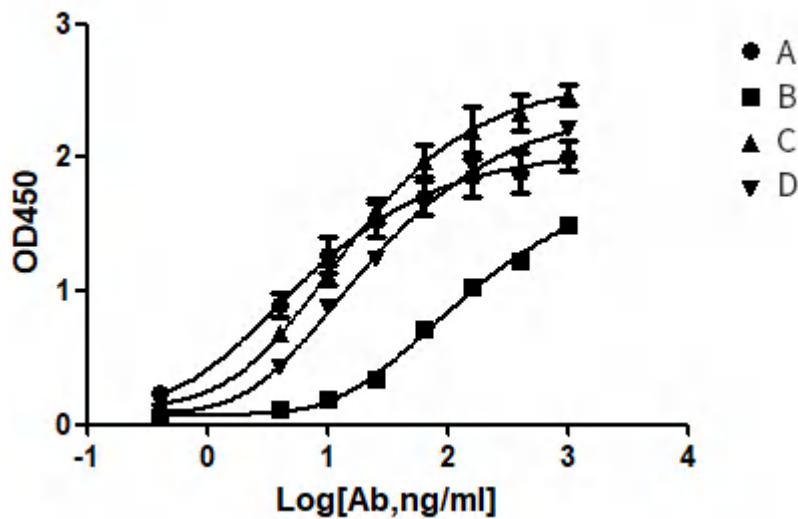


Fig 4.Xten™ Mab 兔单克隆抗体开发之重组抗体 ELISA 检测结果

杂交瘤测序

服务简介

杂交瘤抗体技术是指通过 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合制备单克隆抗体。

杂交瘤抗体技术，应用广泛，技术成熟，但是由于杂交瘤在传代过程中会存在不稳定因素，从而影响抗体的生产；杂交瘤细胞保存条件要求高，需要长期在液氮中冻存；通过杂交瘤测序可以获得杂交瘤所产生的单克隆抗体序列，进而以重组表达方式来生产抗体，此举解决杂交瘤细胞的不稳定性以及难以保存的问题，并以体外重组表达的方式生产抗体，保证了抗体的稳定性，同时有效避免内源性生物污染。

普健生物为客户提供从杂交瘤测序到重组抗体表达的整体解决方案，自有第三代 pATX3.0 系列哺乳表达平台，重组抗体瞬转产量可达 200-500mg/L，为工程抗体表达纯化提供更高效的服务。

普健生物提供优质的单克隆抗体测序服务。获取单克隆抗体序列是进行抗体工程及抗体人源化研究的前提，同时还用于重要基因进行专利等知识产权的申请。

服务优势

1. 接受培养中细胞，也可接受冻存的细胞株
2. 周期短，仅需 2 周
3. 提供可变区测序
4. 实验报告含 CDR 区分析

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗体可变区 / 全长测序	1x10 ⁶ 个杂交瘤细胞 单克隆抗体所属亚型	RNA 提取 mRNA 反转录 cDNA PCR 扩增抗体重链及轻链基因 重链及轻链基因克隆测序 生物信息学分析测序结果确定功能抗体基因及抗体 CDR 区 抗体测序结果报告	2-3 周	测序报告 序列原始数据 重链 / 轻链分析 含有抗体片段的质粒

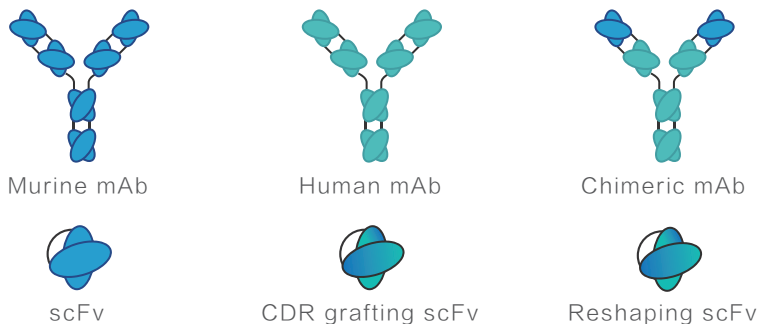




抗体人源化

服务简介

抗体人源化是指通过 DNA 重组技术和蛋白质工程技术, 将鼠源单克隆抗体的大部分氨基酸人源化, 以降低其异源性, 保留亲本鼠单克隆抗体的亲和力和特异性, 这种通过基因重组所表达的抗体既有鼠源成分, 又有人源成分, 所以称为人源化抗体。



一、人源化抗体主要包括以下几类

1. 嵌合抗体

利用 DNA 重组技术, 将异源抗体的轻、重链可变区基因插入含有人抗体恒定区的表达载体中, 转染哺乳动物细胞表达嵌合抗体

2. 改型抗体

改型抗体也称 CDR 植入抗体 (CDR grafting antibody), 抗体可变区的 CDR 是抗体识别和结合抗原的区域, 直接决定抗体的特异性。将鼠源单抗的 CDR 移植至人源抗体可变区, 替代人源抗体 CDR, 使人源抗体获得鼠源单抗的抗原结合特异性, 同时减少其异源性

3. 全人源化抗体

全人源化抗体是指将人类抗体基因通过转基因或转染色体技术, 将人类编码抗体的基因全部转移至基因工程改造的抗体基因缺失动物中, 使动物表达人类抗体, 达到抗体全人源化的目的

二、抗体人源化的优点

1. 降低了机体的免疫排斥反应
2. 更有效地募集效应因子或者效应细胞
3. 体内的半衰期时间长, 改善了抗体药物动力学

三、抗体人源化的基本原则

1. 保持或者提高抗体的亲和力和特异性
2. 降低或者基本消除抗体的免疫原性, 降低免疫排斥反应

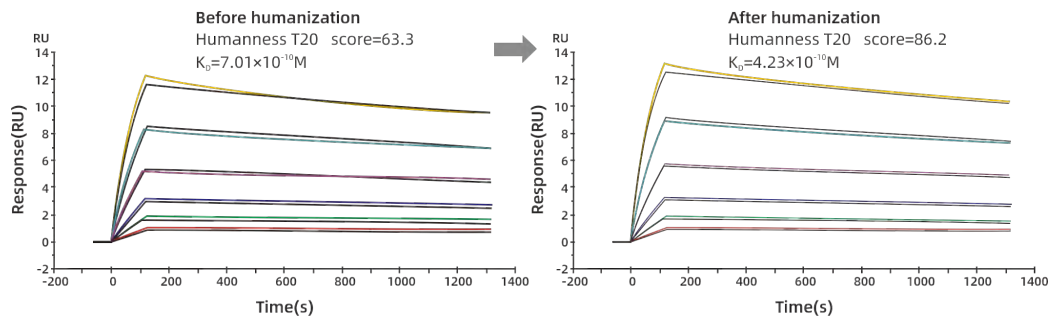
服务优势

1. 普健生物拥有经验丰富的抗体人源化团队, 团队的技术专家曾经成功研制上市的治疗性抗体药物
2. 普健生物拥有自主开发的高表达载体及细胞系, 以及具有商业开发 license 的细胞系
3. 普健生物具有一站式从细胞系开发, 到发酵培养条件优化, 再到 150L 细胞罐发酵, 完成整个治疗性抗体的研发能力

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗体序列获取	目的抗体序列	抗体人源化设计 18 个人源化序列 亲和力测定	2 周	性质较好的 3 株纯化的人源化抗体及其序列 保证至少有一株人源化抗体的亲和力与嵌合抗体相当
抗体人源化			2-4 周	
基因合成及克隆			2 周	
瞬时转染和纯化			3 周	
数据分析			1 周	
稳定细胞系开发			24 周	

案例展示





服务简介

双特异性抗体 (biospecific antibody, heteroconjugate antibody) 是一类具有双功能的杂交抗体分子, 具有两个不同的抗原特异性结合的 Fab 段, 能与不同的配体结合, 通过特异性结合肿瘤抗原同时结合不同的效应细胞和分子, 达到定向杀伤肿瘤细胞的作用。

1.1 含有 Fc 区的双特异性抗体

抗体的 Fc 结构域的生物学功能有: 抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用 (ADCC) 和补体介导的细胞毒作用 (CDC)。双特异性抗体的制备技术手段有以下几种:

Triomabs: Triomabs 通 Fv 功能区分别结合肿瘤细胞及 T 细胞, 通过 Fc 功能区募集表达 FcR 的功能细胞, 如 NK 细胞、单核细胞、巨噬细胞、粒细胞及树突状细胞等, 形成复合体, 刺激 T 细胞分泌细胞因子清除肿瘤细胞, 因此 Triomabs 又被称为三功能抗体。Triomabs 双特异性抗体技术平台由德国 Fresenius 和 Trion Pharma 公司合作开发。

Knobs-into-holes: 这项技术由 Genentech 公司开发。具体方法是将其中一个抗体的重链 CH3 区 366 位体积较小的苏氨酸 (T) 突变为体积较大的酪氨酸 (Y), 形成突出的 “Knobs” 型结构 (T366Y); 同时将另一个抗体重链 CH3 区 407 位较大的酪氨酸 (Y) 残基突变成较小的苏氨酸 (T), 形成凹陷的 “holes” 型结构 (Y407T); 利用 “Knobs-into-holes” 结构的空位阻效应实现两种不同抗体重链间的正确装配。突变后, 产品正确装配率由野生型的 57% 提高至 92%, 能够满足规模化生产的要求。但重链 CH3 的这一改构方式降低了抗体结构的稳定性, 为了克服这一缺点, 研究者通过噬菌体展示技术进行随机突变筛选, 构建了更为稳定的 “3 + 1” 模式 Knobs-holes 结构: 即 T366W 突变成突出的 “Knobs” 型, 3 个氨基酸突变 (T366S, L368A 和 Y407V) 形成凹陷的 “holes” 型。Knobs-holes 结构设计有利于 2 种异源抗体重链的装配。

Crossmab: Crossmab 技术的代表产品为罗氏公司的 RG7221 和 RG7716, 两者均为抗 Ang-2 /VEGF 双特异性抗体。其结构是在 “knobs-holes” 结构基础上通过链交换技术, 将 Ang-2 抗体 Fab 结构域中的 CL 与 CH1 互换, 而 VEGF 抗体的 Fab 结构则保持不变。经过改造的 Ang-2 抗体轻链不易与血管内皮生长因子 (VEGF) 抗体的重链发生错配, 同时 “knobs-holes” 结构可促进两条重链异源二聚化。

Ortho-Fab: 该技术是 Lewis 等报道的一种克服轻链错配的设计策略。Lewis 等通过计算机模型化并结合 X 晶体衍射技术对 VH/VL 及 CH1 /CL 进行正交互补突变设计, 从而减少轻链错配现象, 将此技术结合重链异源二聚化方法, 可以实现双特异性抗体在单一细胞内的高效表达。近期, 静电转向技术 (electrostatic steering) 也被应用进行 Orthogonal Fab 双特异性抗体的构建。

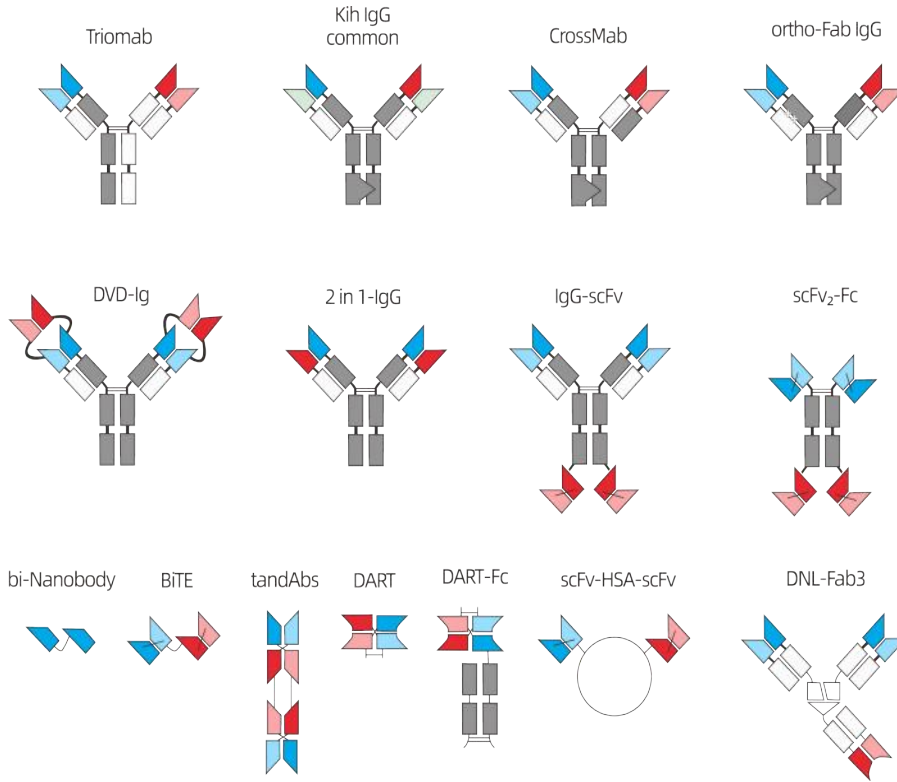
IgG-scFv 及 scFv2-Fc: IgG-scFv 双特异性抗体是将单链抗体 (scFv) 连接在正常 IgG 抗体分子的 C 末端, 通过分子两端的 CDR 区与靶分子结合实现双功能。而 scFv2-Fc 分子与 IgG-scFv 结构类似, 是将两个 scFv 分子分别连接在 Fc 功能区的两端, 形成双功能区。

1.2 不含 Fc 区的双特异性抗体

另一类双特异性抗体不含 Fc 区, 其优点是相对分子质量小、可以在原核细胞中表达且更易穿过组织及肿瘤细胞到达靶点; 缺点是由于不含抗体 Fc 区, 不能介导相应的生物学功能且半衰期通常较短, 如已上市的 Blinatumomab 血液半衰期只有 2.11h, 需要通过注射泵连续给药 28d。目前, 此类双特异性抗体主要有 BiTE, DART, TandAbs, bi-Nanobody 等。

BiTE 双特异性抗体: 德国 Micromet 公司开发的 BiTE 系列产品是不含 Fc 区结构类双特异性抗体的典型代表。BiTE 是将抗 CD3 单链抗体 (scFv) 与不同抗肿瘤细胞表面抗原的单链抗体通过肽段进行连接而获得, 可同时结合 CD3 阳性 T 细胞及肿瘤细胞。BiTE 通过结合 T 细胞表面 CD3, 将 T 细胞募集至肿瘤细胞表面, 从而激活 T 细胞进行肿瘤杀伤。BiTE 技术研究者克服了 scFv 稳定性差、表达量低、溶解性低等生产问题, 成功实现了 BiTE 产品的商业化。

bi-Nanobody 双特异性抗体: Nanobody 是 Ablynx 公司参考骆驼及美洲驼的单域抗体结构 (无轻链及 CH1 区), 通过结构简化, 仅保留 VH 区而开发的专利平台技术。在实际应用中, Nanobody 是将 2 个或多个抗体分子的 VH 区进行连接而实现多特异性结合。该类产品的优点是分子小、稳定性高、易于人源化、易于连接, 并可通过多种途径进行给药。此外, 在分子设计时可选择加入与人白蛋白结合的功能区, 将半衰期延长至 2 ~ 3 周, 并且可以通过白蛋白将药物运输至靶点。

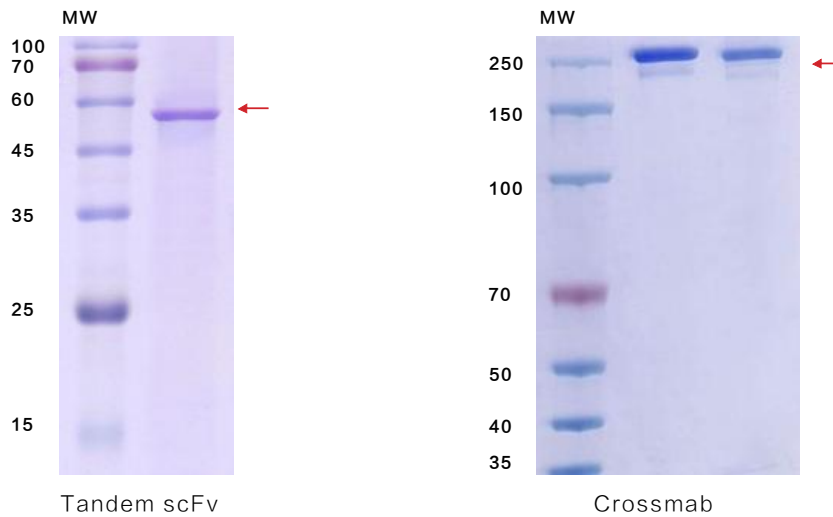


普健生物具有经验丰富的双特异性抗体制备团队，能够提供以上双特异性抗体类型的设计

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
双特异性抗体	抗体序列	基因合成及密码子优化 载体构建 表达及纯化 QC 分析	5 周	纯化抗体 技术服务报告

案例展示





抗独特型抗体制备

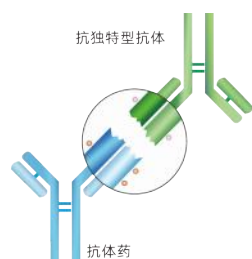
服务简介

抗独特型抗体 (Anti-idiotypic antibody) 是指能够特异性结合待测抗体位于可变区的独特位 (Idiotypic) 的抗体。在抗体药物开发过程中, 它可以特异性的检测体内的抗体药物, 是药代动力学研究的关键试剂。主要应用领域: 抗体药物药代动力学分析、抗体药物免疫原性分析、抗药物抗体的临床开发。普健生物拥有多年的抗独特型抗体开发经验, 可以提供从抗原制备, 抗独特型抗体开发到检测试剂盒开发全套技术服务。

抗独特型抗体的类型

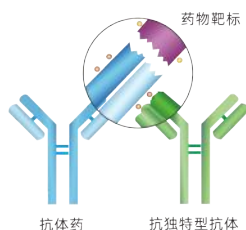
一、单克隆抗独特型抗体

单克隆抗独特型抗体可应用于药代动力学研究中游离型, 结合型和抗体药物总量的检测。根据待检测抗体药的类型, 普健生物可以提供抗原中和, 非中和及药物靶标复合物三种类型的抗独特型抗体。普健生物为您提供保证型配对抗体服务, 交付识别不同独特位且配对成功的抗体, 将大大提高下游 Sandwich ELISA 检测试剂盒开发的成功率。



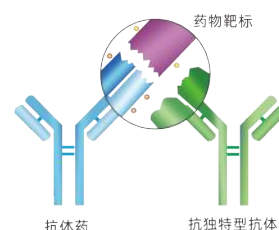
抗原中和型

- 抗原阻断型
- 检测游离型药物



非中和型

- 抗原非阻断型
- 检测抗体药物总量



药物靶标复合物型

- 抗原非阻断型
- 检测结合型药物

二、多克隆抗独特型抗体

潜在免疫反应 (Immune response) 的检测已成为药物开发和上市后重要的监管要求。高灵敏度及多样性的多克隆抗独特型抗体可作为免疫原性研究中的阳性参照物, 模拟 ADA 在人体中产生的情况。普健生物提供高亲和力和特异性的多克隆抗独特型抗体开发服务, 针对客户不同抗体量的需求, 我们将最大程度为客户节省开发成本。

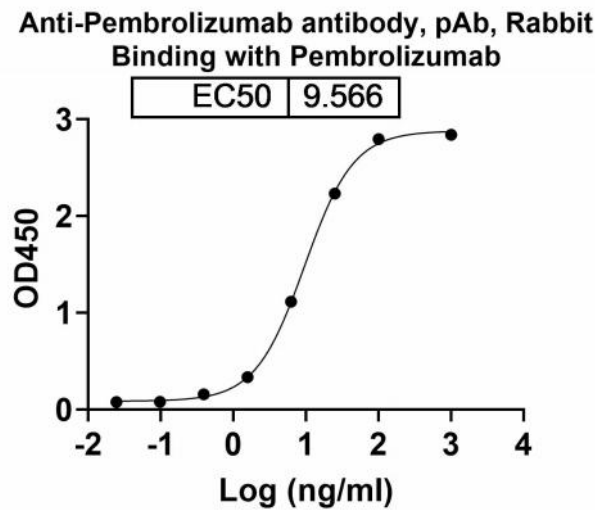
服务优势

1. 同时用于鼠单克隆抗体和兔单克隆抗体技术平台, 可以制备出高亲和力、高特异性的抗独特型抗体
2. 完善的抗原制备平台, 重组抗体表达平台可以实现 F(ab')₂ 全长抗体的高通量表达, 全长抗体的酶切以及纯化经验丰富
3. 可以建立后续的检测方法, 以及试剂盒的开发

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
抗独特型兔多克隆抗体制备服务	纯度 > 85% 的靶向抗体药 同型对照 / 人源 IgG	抗原复核 抗原制备 免疫及血清效价检测 纯化 QC 分析	4-6 个月	免疫前后血清 纯化后的抗体 技术服务报告
抗独特型鼠单克隆抗体制备服务		抗原复核 抗原制备 免疫及血清效价检测 融合及筛选 抗体生产及纯化 QC 分析 ELISA 配对检测	4-6 个月	阳性克隆的杂交瘤细胞培养上清 纯化的抗体 杂交瘤细胞系 技术服务报告
抗独特型兔单克隆抗体制备服务		抗原复核 抗原制备 免疫及血清效价检测 建库及筛选 抗体生产及 QC 分析 ELISA 配对检测	2-3 个月	纯化的抗体 完整的抗体序列(包括重链和轻链) 技术服务报告

案例展示





重组抗体生产平台

Recombinant Antibody platform

04

NEXT	嵌合抗体生产	052
	抗体片段生产	054
	高通量低内毒素重组抗体表达	056
	大规模重组抗体生产	057

重组抗体包括嵌合抗体、人源化抗体、抗体片段、双特异性抗体、纳米抗体等。与传统的单克隆抗体相比，重组抗体具有抗体基因序列明确、可以进行基因工程改造、便于大量生产等诸多优势，现已被广泛应用于科学研究、免疫诊断以及治疗性抗体领域。

普健生物作为武汉国家生物产业基地指定的光谷抗体发现与筛选公共服务平台，拥有完善、高效的重组抗体表达技术平台，可以实现抗体发现、抗体测序、抗体表达、重组抗体生产一站式服务。

嵌合抗体生产

服务简介

嵌合抗体是指将一个物种的抗体恒定区更换为另一个物种的。最早使用此技术的是 1984 年 Morrison 等人将鼠单抗可变区与人 IgG 恒定区在基因水平上连接在一起，成功构建了第一代人-鼠嵌合抗体。嵌合抗体成功的例子：Rituxan（中文名美罗华），罗氏公司的抗 CD20 抗体，用于治疗 B 淋巴瘤，含人 IgG1 恒定区。它的抗淋巴瘤作用主要来自于补体作用、ADCC 作用。2015 年此单一产品的销售额达到 70 亿美元。

此项技术不止局限于人鼠嵌合，还可以应用在很多方面，例如将鼠抗体的恒定区换为兔恒定区。同理，任一物种的抗体恒定区可以被换成其他任何物种的，也可以把同一物种的抗体更换不同亚型表达。普健生物拥有丰富的多物种（human、mouse、rabbit、rat、canine 等）嵌合抗体生产经验，可以满足您的各种嵌合抗体生产服务需求。

服务优势

1. HEK293 或 CHO 哺乳动物细胞表达：更好的糖基化及翻译后修饰
2. 可变区种属选择多样性：Human、Mouse、Rat、Canine、Rhesus、Chicken、Rabbit、Camel 等
3. 恒定区种属选择多样性：Human、Mouse、Rat、Canine、Rhesus、Rabbit 等
4. 多亚型经验：IgG、IgA、IgM、IgE
5. 表达量高

服务内容

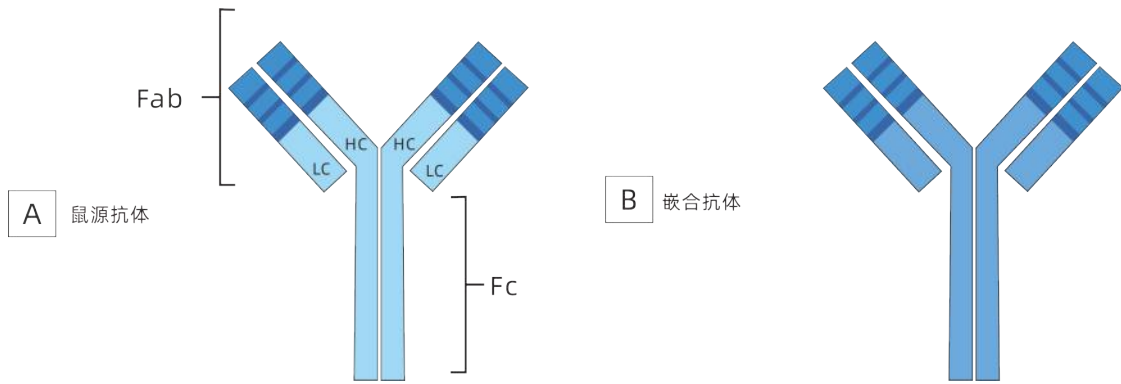
服务内容		客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
密码子优化及基因合成		抗体序列 或质粒	密码子优化及基因合成 目的基因亚克隆 表达及纯化测试 放大与抗体纯化 抗体 QC 分析	1-2 周	纯化后抗体 技术服务报告
载体构建	将重链、轻链克隆至表达载体，测序验证并提取质粒			1 周	
表达及纯化	瞬时转染 HEK293/CHO 细胞			1-2 周	
	纯化抗体				
QC 分析	SDS-PAGE 分析			1-3 周	
	SEC-HPLC 分析（可选）				
	内毒素测定（可选）				
	ELISA（可选）				
	DSC（可选）				
	Biacore（可选）				

* 注意事项

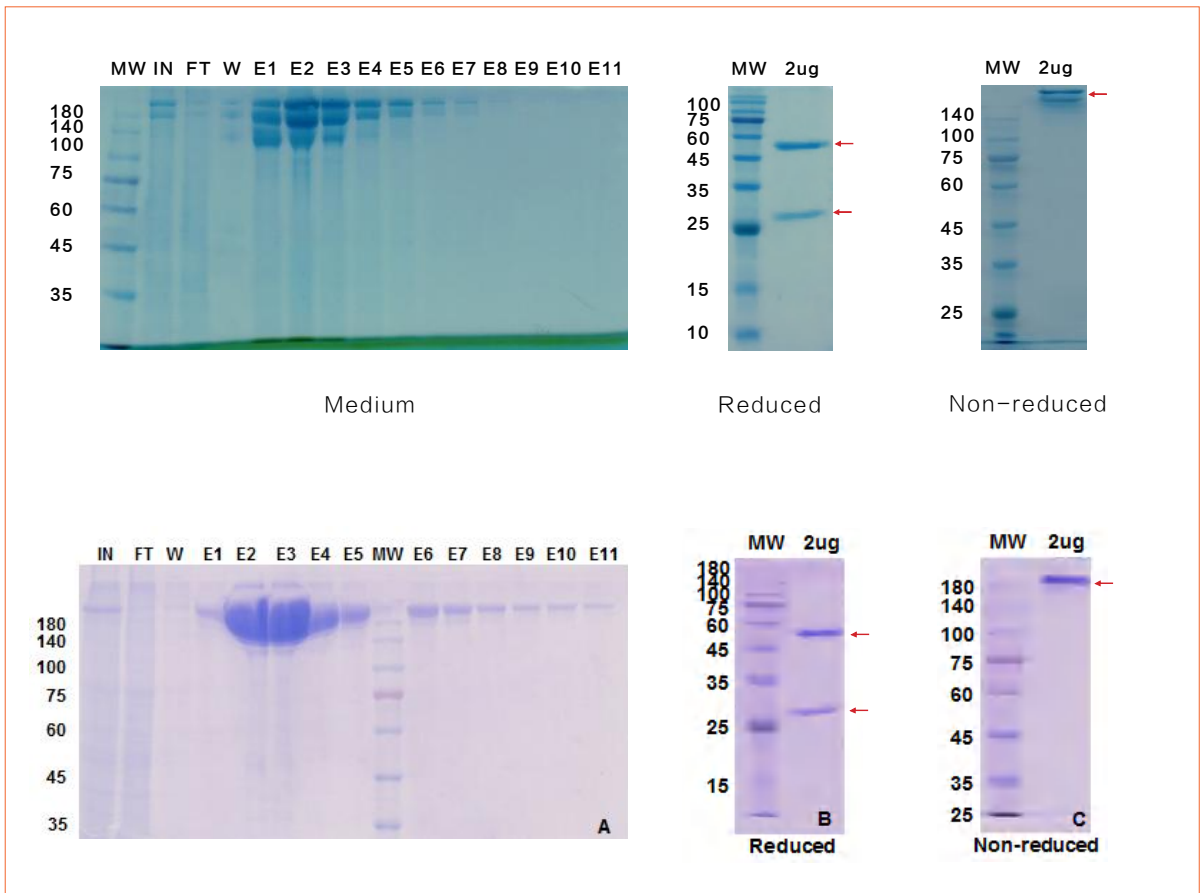
- 1、客户可提供抗体序列或者含有抗体基因的质粒
- 2、SEC-HPLC 及内毒素检测不包含在标准服务项目中，如有需要在服务要求中标明



案例展示



抗体结构示意图



人鼠嵌合抗体



抗体片段 (VHH、ScFv、Fab) 生产服务

服务简介

抗体片段是整个抗体分子中的小型功能元件，与完整抗体相比，抗体片段在某些免疫化学实验应用中具有多种优势：

1. 减少了 Fc 相互作用导致的非特异性结合（许多细胞具有结合 Fc 区的受体）
2. 在免疫沉淀和蛋白质印迹实验中，控制 Fc 与蛋白 protein A 或蛋白 Protein G 结合
3. 更有效地穿透组织切片，改善免疫组织化学（IHC）染色
4. 减少大蛋白质表位的位阻，固相应用中抗原检测的灵敏度可能更高
5. 消除抗原抗体结合研究与 Fc 相关的效应功能（例如补体固定）
6. 利用 X 射线晶体学或 NMR 来研究免疫识别结构区，操作更简便
7. 内源实验时的免疫原性低于完整抗体

普健生物提供种类齐全的个性化抗体片段表达服务，包括 Fab、ScFv、VHH、tandem-scFv 等。可根据客户提供的抗体信息表达抗体片段。普健生物自有的哺乳表达系统高产量 pATX 系列载体及驯化 293 系列和 CHO 系列细胞，能够实现多种形式的重组抗体片段的高效分泌表达。

服务优势

1. 表达多样化：可提供 Fab、scFv 单链抗体、sdAb 单域抗体，di-scFv，Fc 融合蛋白等重组抗体表达
2. 高表达 & 低成本：自有载体及细胞系，高表达平台，极大降低单位质量抗体成本
3. 经验丰富 & 技术成熟：已完成近万个重组抗体表达，成功率 > 95%

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
密码子优化及基因合成			1-2 周	
载体构建	将重链、轻链克隆至表达载体，测序验证并提取质粒		1 周	
表达及纯化	瞬时转染 HEK293/CHO 细胞		1-2 周	
	纯化抗体			
QC 分析	抗体序列或质粒	密码子优化及基因合成 目的基因亚克隆 表达及纯化测试 放大与抗体纯化 抗体 QC 分析	1-3 周	纯化后抗体 技术服务报告
		SDS-PAGE 分析		
		SEC-HPLC 分析（可选）		
		内毒素测定（可选）		
		ELISA（可选）		
		Biacore（可选）		
		DSC（可选）		

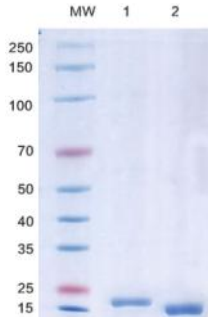
* 注意事项

- 1、客户可提供抗体序列或者含有抗体基因的质粒
- 2、SEC-HPLC 及内毒素检测不包含在标准服务项目中，如有需要请在服务要求中标明

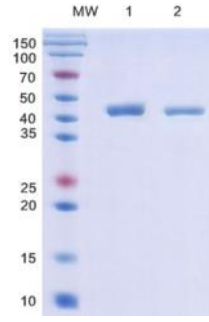


案例展示

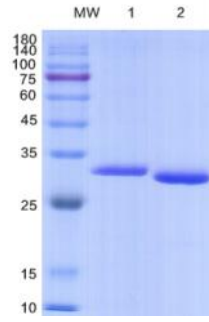
VHH with His tag



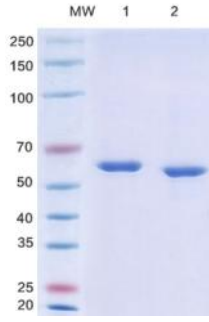
VHH with Fc



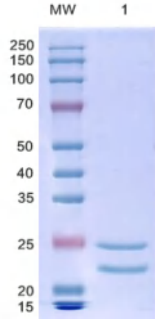
scFv with His tag



scFv with Fc



Fab with His tag





高通量低内毒素重组抗体表达

服务简介

普健生物拥有自主研发的 XtenCHO™ 哺乳表达系统，能高效快速表达各种类型的抗体和重组蛋白。高通量低内毒素抗体表达平台是大量生产抗体小样经济实惠的选择，表达体系从 1ml 至 30ml，一次性可以同时进行 200 个样本的转染生产。从基因合成到抗体纯化，再到完善的抗体质量检测系统（SDS-PAGE, Elisa, SEC-HPLC, Biacore, DSC, Octet, FACS 等），普健生物经过近十多年的技术积累能提供一站式服务及个性化设计，形成了完善的高通量质粒大提，重组单克隆抗体表达和低内毒素抗体纯化平台，纯化的重组抗体内毒素含量可低至 0.1 EU/ml，为抗体筛选及抗体药开发提供便捷高效安全的服务。

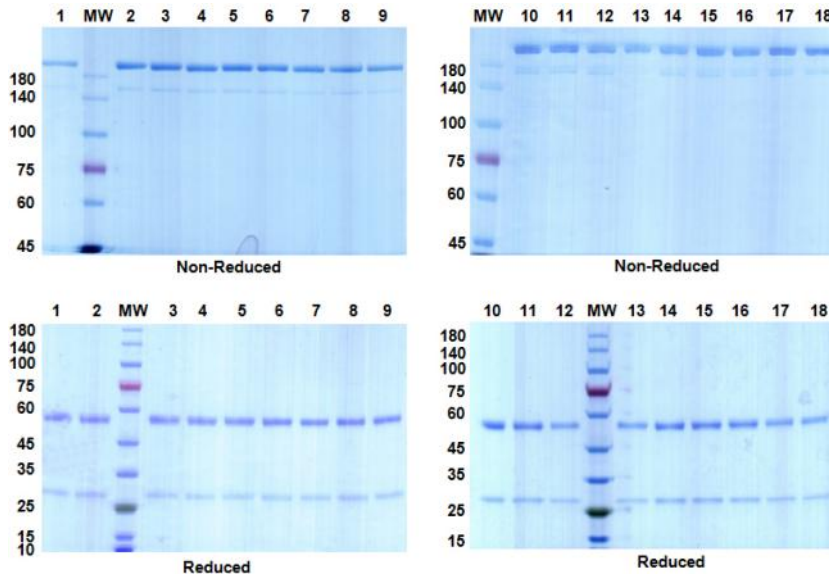
服务优势

1. 拥有丰富的重组抗体生产经验，自主开发的 XtenCHO™ 哺乳表达体系，产量高，已经生产上万种抗体。
2. 产能高，一次性可以同时进行 200 个抗体的转染，生产周期快。
3. 低内毒，纯化后重组抗体内毒素含量可低至 0.1 EU/ml

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
高通量低内毒抗体表达	抗体序列	序列优化与基因合成	2-3 周	目的抗体 技术服务报告
		无内毒素质粒大提		
		细胞转染与培养		
		低内毒素抗体纯化		
		内毒素含量测定		

案例展示

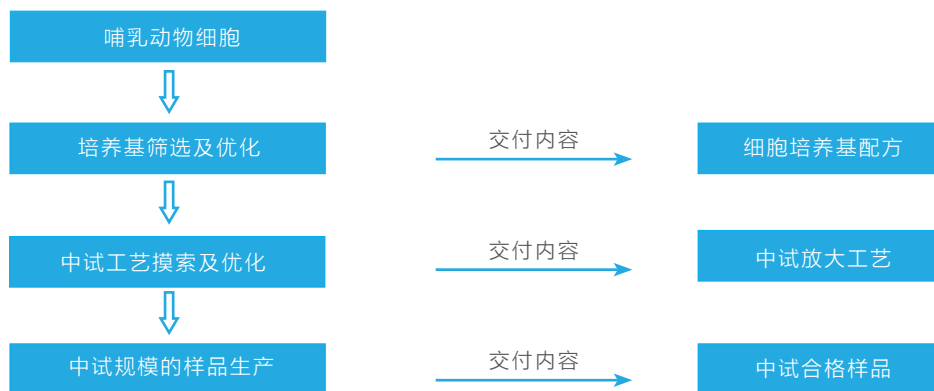




大规模重组抗体生产

服务简介

目前普健生物用于哺乳动物细胞表达系统中试平台配备的仪器有 NBS 细胞罐 2.2L、7L、40L、150L；用于快速分析细胞培养基中主要或关键营养成分、代谢产物及气体含量的多功能细胞培养分析仪、手提式 CO₂ 浓度测定仪；用于细胞快速精确检测的流式细胞仪；用于后续检测的酶联免疫检测仪、荧光显微镜等。可以快速进行哺乳动物细胞大规模高密度培养工艺的开发、优化及小规模生产。



中试试验流程介绍

服务优势

本中试平台可以进行哺乳动物细胞表达系统的中试工艺开发、放大及验证，小规模样品的制备。

通过 DOE 方法快速筛选及优化细胞培养基，筛选低血清、无血清培养基，简化分离纯化手段，提高生物制品的安全性和产率；

进行哺乳动物细胞高密度培养，通过 NBS 细胞罐优化控制参数，进行补料工艺的摸索及优化，提高产量，降低成本；

从 2.2L-7L-40L-150L 发酵规模逐级放大，摸索放大过程中的工艺难点，为放大生产提供技术保障；

在小试及中试上实现工艺验证，为保证最终产品质量提供数据支持和经验积累；

实现小规模的样品生产，为后续的试验提供样品来源。

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
细胞大规模培养中试平台	抗体序列	基因合成及密码子优化 (可选)	2-3 周	已优化的培养基配方 中试发酵工艺流程 测试样品
		载体构建		
		表达及纯化		
		QC 分析		



普健生物具有完善的诊断原料及试剂盒开发平台：

1. 可以利用五种表达系统进行重组蛋白的表达，制备诊断原料或者用于制备抗原
2. 可以提供多克隆抗体，鼠 / 兔单克隆抗体的制备；同时能够进行抗体标记
3. 可以提供免疫比浊、ELISA、化学发光、胶体金等技术研发
4. 已经成功研发出多种诊断原料（IL-6、AFP、HE4），可供筛选使用

诊断原料及试剂盒开发服务

服务简介

体外诊断产品的质量取决于抗原、抗体、蛋白酶等核心原料的质量。目前市面上商品化的诊断原料多以进口品牌为主，并不能满足所有体外诊断研发的需求。普健生物拥有 15 年的蛋白抗体开发和生产经验，凭借我们坚实的研发背景以及专业的技术支持，为客户提供全方位的定制服务，可为客户量身定制其研发所需的免疫诊断试剂盒原料，可用于传染病、肿瘤标志物、心肌标志物、自身免疫性疾病、抗生素滥用、内分泌 & 激素、神经生物学、代谢综合症、白血病、凝血与贫血、酶、组织相容性抗原分型、常用生物化学原料等临床检验和 POCT 检测领域。

普健生物诊断试剂定制开发，由 4 个不同的功能部组成：

重组蛋白 开发平台

具备完善的原核（大肠，枯草）真核（哺乳，昆虫，酵母）表达系统，能够进行蛋白的多平台表达测试，纯化工艺研究（包括蛋白复性研究），中试生产工艺研究等实验，为企业定制所需要的功能蛋白

抗体发现平台

具备高效的单 / 多克隆抗体定制平台，鼠、兔、鸡、羊多宿主平台；同时可建立多种属的噬菌体抗体免疫文库（鼠、兔、鸡、羊、猫、狗、猪）及纳米抗体噬菌体文库，结合重组抗体生产平台，为客户提供高纯度，高亲和力的抗体

免疫工程及 质检平台

可进行抗原、抗体的多种酶、生物素、亲和素等标记工作；拥有酶联免疫及化学发光平台，可进行 ELISA 试剂盒及化学发光试剂盒的系统调试及优化工作

细胞工 程平台

可进行高产稳定细胞株的筛选，20-150L 发酵体系的中试

服务优势

1. 拥有完善的蛋白表达系统及抗体开发平台
2. 多年的蛋白及抗体开发经验及人才储备
3. 全面的技术服务，普健生物能够提供从基因合成、载体构建、蛋白表达及纯化、抗体制备、抗体筛选、抗体标记、抗体配对、试剂盒生产工艺优化等技术服务

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
配对型单克隆抗体定制 稳定细胞系构建 驼类纳米抗体定制开发 单克隆抗体定制 多克隆抗体定制 重组蛋白抗原定制开发 胶体金试纸条定制开发 ELISA 试剂盒定制开发	抗原信息	诊断试剂及抗体原料的研制 检测方法的构建和试剂盒工艺设计及优化 试剂盒小样本临床前评价	6-8 个月	成品试剂盒以及配套方案

NEXT	细胞培养及转染	061
	细胞增殖 / 毒性检测	062
	细胞凋亡检测	063
	流式细胞检测	064
	Transwell 检测	065
	平板克隆检测	066
	real-time PCR	067
	双荧光素酶报告基因检测	069
	SPR 亲和力测定	071
	Western Blot	073
	免疫组化 IHC	074
	免疫荧光 IF	075
	免疫共沉淀 Co-IP	076
	GST Pull-Down	077

普健生物具有完善的基础检测实验服务平台，拥有三大技术服务平台：分子生物学，细胞生物学，免疫学。

分子生物学可以提供载体构建，荧光定量 PCR 检测，双荧光素酶检测等技术服务。

细胞生物学可以细胞培养及转染，CCK8，MTT，细胞划痕，transwell，平板克隆，流式凋亡 / 周期等检测。

免疫学可以提供包括 Western blot，免疫荧光，免疫组化，Co-IP 等检测。

细胞培养及转染服务

服务简介

一、细胞培养

细胞要在体外持续的增殖就必须进行传代，以延续良好的细胞生长或者获得大量的同种细胞。

二、细胞共培养

细胞共培养体系主要用于诱导细胞向另一种细胞分化，诱导细胞自身分化，维持细胞功能和活力，对细胞增殖进行调控等。

三、细胞转染

细胞转染是将外源的 DNA，RNA 等分子导入到真核细胞，普健生物可提供质粒，siRNA，mimic，inhibitor 等转染到宿主细胞中。

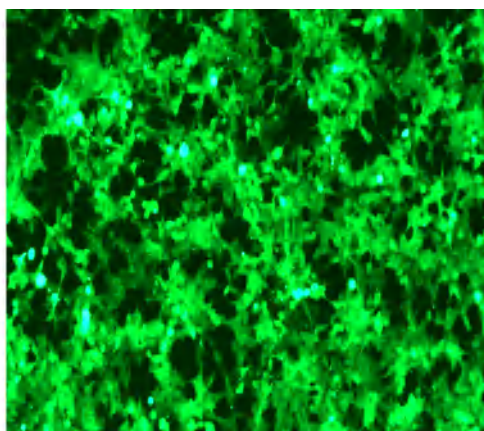
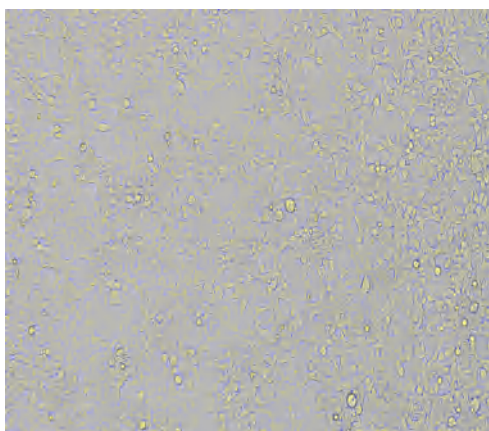
服务优势

先进的细胞实验室，严格的质量服务体系，现成的肿瘤细胞库

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
细胞培养	客户提供细胞株，或者由我们提供细胞株	细胞的培养和鉴定 直接共培养或者 Transwell 共培养 细胞的传代和保存 质粒 DNA 或者 RNA 分子的转染	详询	细胞株 技术服务报告

案例展示



细胞增殖 / 毒性检测服务

服务简介

细胞增殖是生物体的重要生命特征，细胞以分裂的方式进行增殖。

细胞毒性是由细胞或化学物质引起的单纯细胞杀伤事件，不依赖于凋亡或坏死的细胞死亡机理。

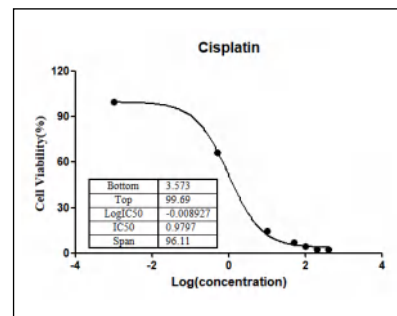
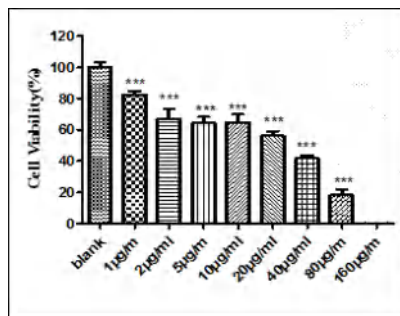
服务优势

先进的细胞实验室，严格的质量服务体系，现成的肿瘤细胞库。

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
细胞增殖 / 毒性检测	细胞株，或者由我们提供细胞株 实验所需药品，药物作用方法	细胞培养 药物处理 MTT 或者 CCK8 检测 细胞的传代和保存	详询	技术服务报告

案例展示



细胞凋亡检测服务

服务简介

将 Annexin V 进行荧光素标记，以标记了的 Annexin V 作为荧光探针利用流式细胞仪进行检测。碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种核酸染料，它不能透过完整的细胞膜，但对凋亡中晚期的细胞和死细胞，PI 能够透过细胞膜而使细胞核染红。因此将 Annexin V 与 PI 匹配使用，就可以将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

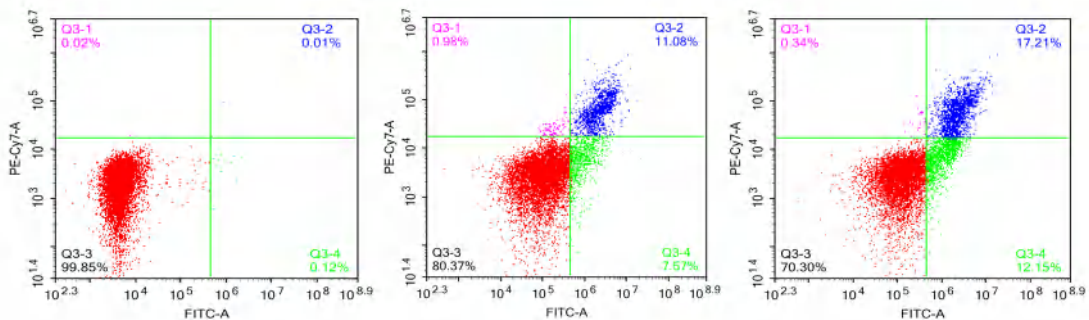
服务优势

1. 先进的细胞实验室
2. 严格的质量服务体系
3. 可提供肿瘤细胞库

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
细胞凋亡检测服务	细胞株，或者由我司提供细胞株	细胞培养 细胞染色 流式细胞仪检测	详询	技术服务报告

案例展示



流式细胞检测服务

服务简介

流式细胞术是一种在液体系统中，测定单个细胞或细胞器的生物、物理和化学特性，并根据这些特性将所需要的细胞或细胞器进行定量分析和分选的技术。它是一种可以检测细胞或者生物学颗粒的多种特性的技术，用来了解细胞群的均值和分布情况，并还可以分选感兴趣的细胞、对该细胞做进一步的培养研究。

服务优势

- 自有流式平台，多年流式检测服务经验
- 实验方案设计、样品制备、数据分析多方面确保准确性、可靠性

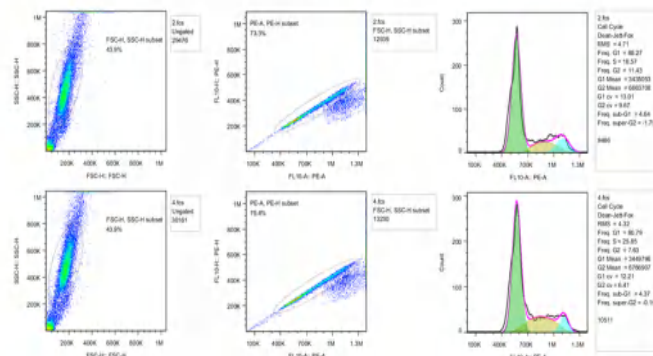


Agilent NovoCyte 流式细胞仪

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
细胞表面抗原检测 细胞内抗原、细胞因子检测 细胞活性检测 细胞周期检测 线粒体膜电位检测 细胞钙离子检测	标本：组织、细胞、全血（抗凝） 抗体（荧光素 / 荧光染料标记）	流式细胞检测	详询	技术服务报告

案例展示



Transwell 检测服务

服务简介

Transwell 小室是一类有通透性的杯状的装置，一般是用来研究肿瘤细胞的运动能力。Transwell 迁移即细胞在接收到迁移信号或感受到某些物质的梯度后而产生的移动。Transwell 侵袭是通过人工模拟细胞外基质的方法来检测细胞穿过基质的能力。

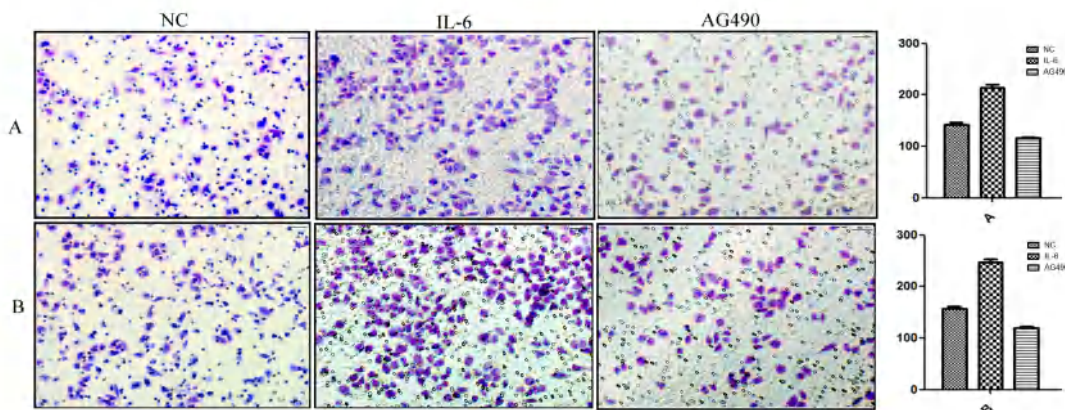
服务优势

先进的细胞实验室，严格的质量服务体系，现成的肿瘤细胞库

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
Transwell 检测服务	细胞株，或者由我们提供细胞株 实验所需药品，药物作用方法	细胞培养 药物处理及小室平衡 Transwell 检测 观察，染色，拍照及结果分析	详询	技术服务报告

案例展示



平板克隆检测服务

🔗 服务简介

细胞克隆形成能力是最能反映细胞群体依耐性以及增殖能力的，是接种细胞后贴壁的细胞成活并形成克隆的数量。试验方法简单，适用于贴壁生长的细胞，在研究细胞表型中经常会用到。

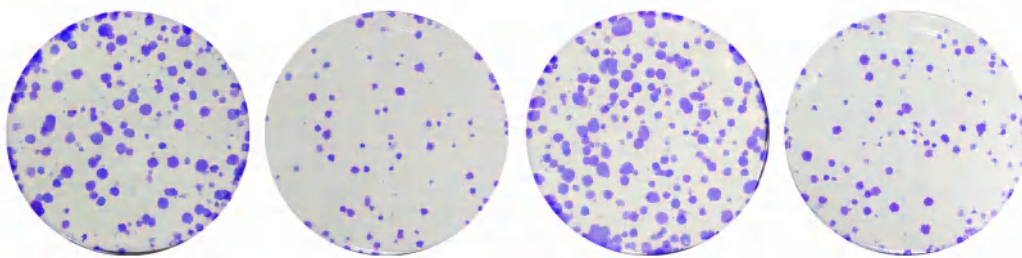
🔗 服务优势

先进的细胞实验室，严格的质量服务体系，现成的肿瘤细胞库

🔗 服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
平板克隆检测服务	细胞株，或者由我们提供细胞株 实验所需药品，药物作用方法	细胞培养 药物处理 克隆形成检测，结晶紫染色及拍照 克隆形成率计算	详询	技术服务报告

🔗 案例展示



Real-time PCR

服务简介

RT-PCR (反转录 PCR) 和 q-PCR (荧光定量 PCR) 是分子生物学研究和法医诊断中常用的两个技术手段。qPCR 是指在 PCR 反应体系中加入荧光染料, 利用荧光信号积累实时监测整个 PCR 进程, 最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。荧光定量 PCR 以其特异性强、灵敏度高、重复性好、定量准确、速度快、全封闭反应等优点成为了分子生物学研究中的重要工具。

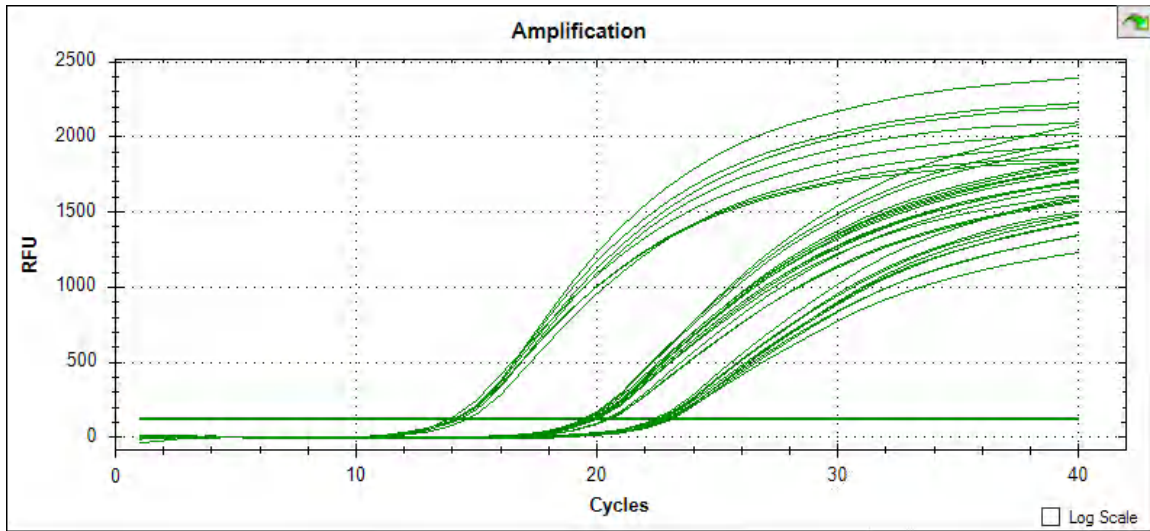


图 1 典型的扩增曲线

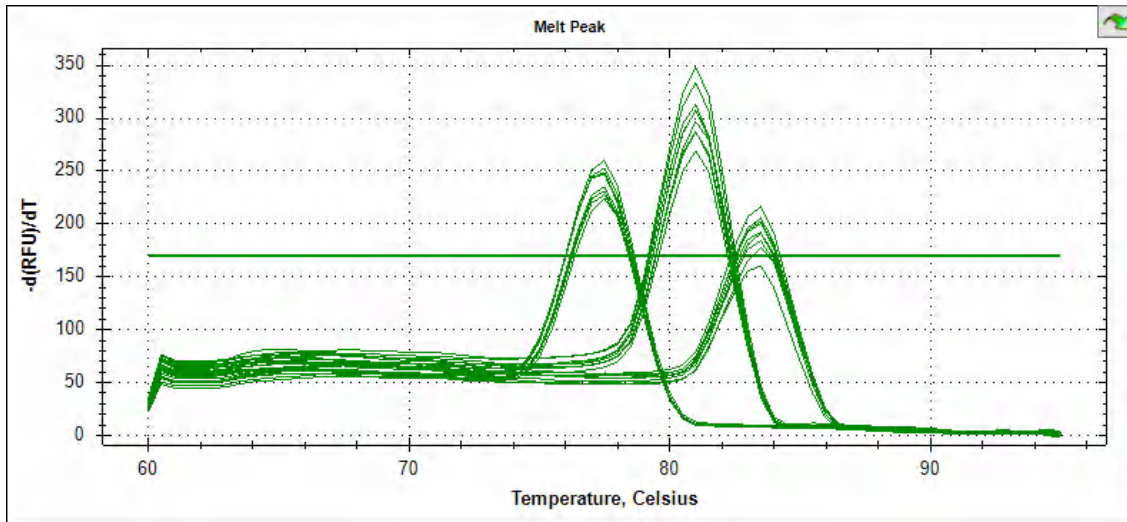


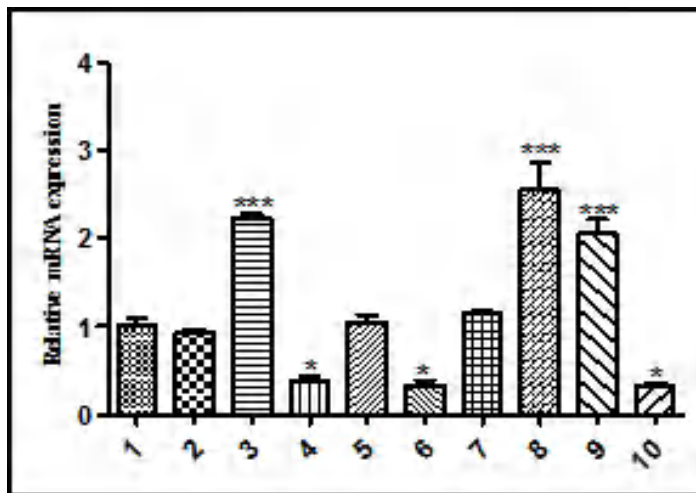
图 2 典型的熔解曲线



服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
SYBR Green dye 法	基因名称、种属或基因 ID、序列信息	引物设计与合成 qPCR 检测 数据分析	2-5 个工作日	技术服务报告

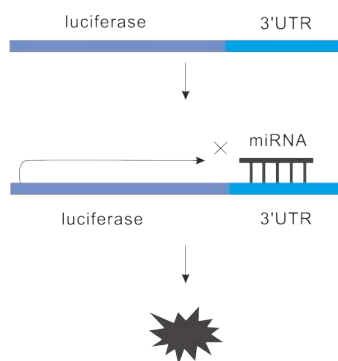
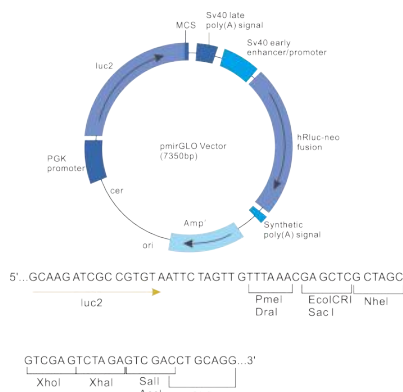
案例展示



双荧光素酶报告基因检测服务

服务简介

普健生物报告基因检测实验系统采用萤火虫荧光素酶 (Firefly Luciferase) 和海肾荧光素酶 (Renilla Luciferase) 组成双荧光素酶报告基因实验系统 (Dual-Luciferase Reporter Assay)。实验中萤火虫荧光素酶与基因表达的特定实验条件相关, 海肾荧光素酶用来做转染的内参, 以校正不同样品之间转染的转染效率。萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶不需要翻译后修饰即具有生物活性, 一旦翻译完成即具有报告基因的功能。通过加入特定的荧光素酶底物, 荧光素酶与底物反应过程中会发出生物荧光, 然后通过荧光测定仪测定反应过程中释放的生物荧光。



双荧光素酶报告基因检测设计图及原理图示

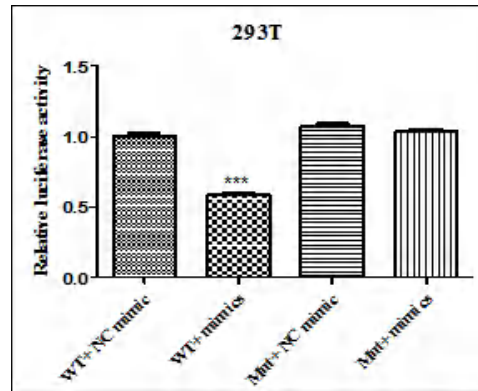
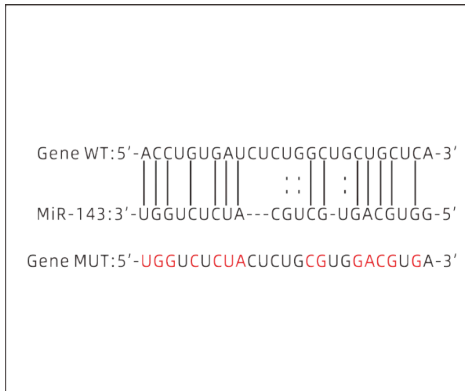
服务优势

1. 拥有长期的报告基因实验分析经验, 帮助你合理设计实验。
2. 高效转染试剂、高灵敏度荧光素酶检测试剂盒, 确保结果的可靠性。
3. 全面的技术服务, 提供详细的原始数据和实验报告。

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
双荧光素酶报告基因检测服务	构建好的含目的调控元件的报告基因质粒, 并提供报告基因质粒的全部相关信息。也可以提供靶基因信息以及结合位点, 由普健生物将其克隆到相应的报告基因质粒上	序列分析 相关载体亚克隆 细胞培养及报告基因质粒、转录因子的共转染 双荧光素酶活性检测 实验报告	2-4 周	技术服务报告

案例展示

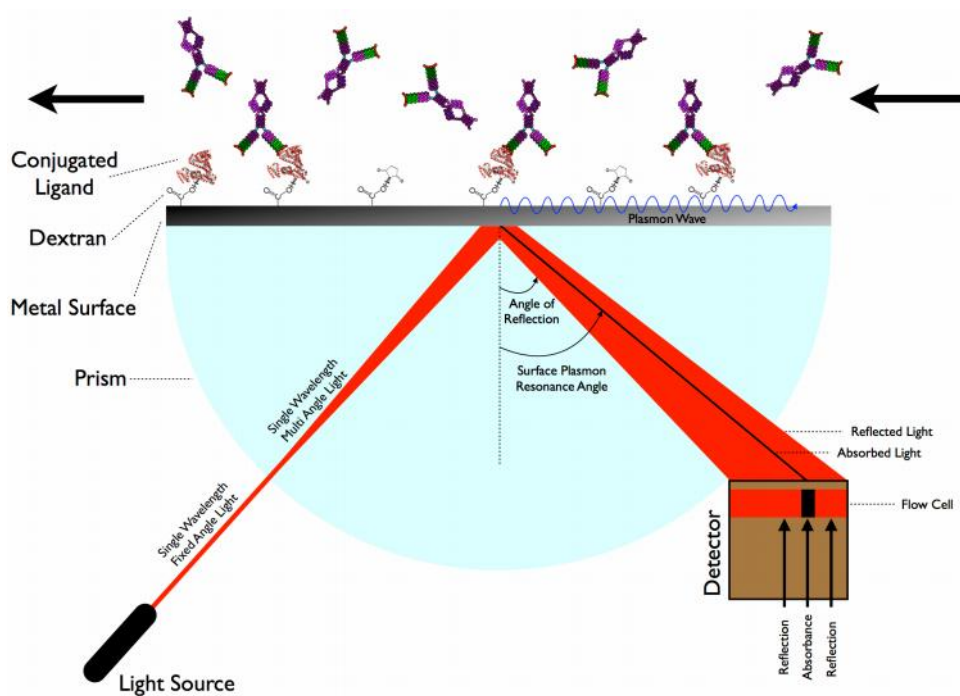


SPR 亲和力测定

服务简介

亲和力是判定分子间相互作用的重要参数，是了解分子以及药物的发现与筛选等的重要指标。对于药效的评价、生物大分子及其复合体的稳定性的评估需要从动力学、热力学和热稳定性等方面进行：包括分子间的结合、结合的快慢、结合的强弱、结合的机理等多方面的全面性研究。

普健生物提供的表面等离子共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 服务能够实现对抗体、多肽、核酸及小分子化合物等相互作用的定性定量分析，也可以对细胞裂解液、文库样本等依托 LSPR-Selex 技术垂钧筛选未知靶标。



SPR 芯片工作原理示意图

服务优势

1. 高灵敏度：检测灵敏度达 pM 级 (5pg/mm²)
2. 低浓度范围：0.1nM - 1mM
3. 应用范围广：蛋白，抗体，核酸，小分子等等
4. 无需标记实时分析：节省时间与材料，实时监控

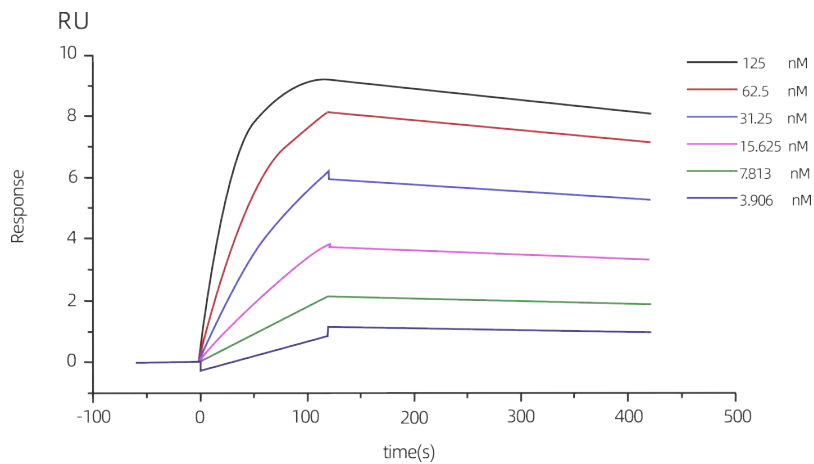
服务内容

服务内容	服务周期	交付内容
样本准备 (可选)	/	蛋白 / 抗体 / 多肽 / 核酸 / 小分子等
亲和力测定	2-3 周	亲和力检测报告 结合常数 (Ka)、解离常数 (Kd)、亲和常数 (KD) 响应曲线 亲和力强弱排序

案例展示

参数	释义	结果
ka (1/(M*s))	结合速率常数	2.82e5
kd (1/s)	解离速率常数	4.16e-4
KD (M)	解离平衡常数, 也叫亲和力常数	1.48e-9

动力学及亲和力参数



结果说明：靶蛋白跟 Gidn 的亲和力为 48 nM.

Western Blot 服务

服务简介

Western Blot 即蛋白质印迹法，是分子生物学中常用的一种实验方法，通过特异性抗体对凝胶电泳处理过的细胞或生物组织样品中目的蛋白特异性识别结合，进行定性和半定量分析，检测蛋白水平的表达。

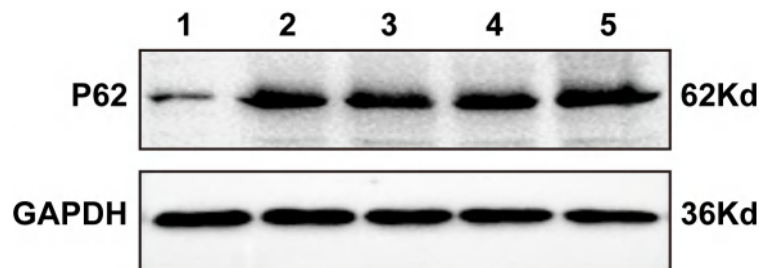
服务优势

1. 保证实验的精确度，严格的 QC 质控。
2. 对每一个结果用实验来论证给出解释。
3. 大量 WB 应用优秀抗体可用。

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
Western Blot 服务	目的蛋白处理方式 商议抗体选用	处理获取待测蛋白样品 初步定量检测 凝胶电泳 转膜曝光 结果整理 提交报告	详询	待测蛋白样品 Western Blot 曝光结果及分析 技术服务报告

案例展示



免疫组化 (IHC) 服务

服务简介

IHC 是应用免疫学基本原理抗原抗体反应，即抗原与抗体特异性结合的原理，通过化学反应使标记抗体的显色剂（荧光素、酶、金属离子、同位素）显色来确定组织细胞内抗原（多肽和蛋白质），对其进行定位、定性及相对定量的研究。

普健生物提供石蜡切片和冰冻切片服务

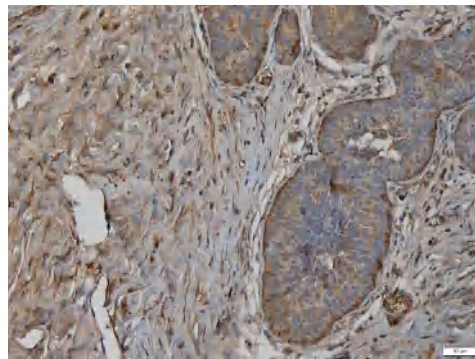
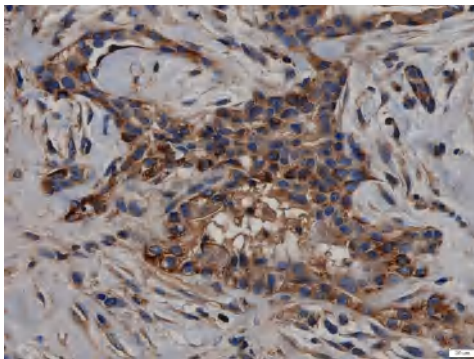
服务优势

1. 进口切片仪器，实验样本质量可靠
2. 优化的实验步骤，确保排除假阳性，假阴性，实验标本长期保存

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
IHC 服务	组织或切片 待测抗原信息 待测抗原表达位置	组织固定和包埋 切片并固定 脱蜡 抗原修复 免疫组织化学染色，复染 脱水，封片 显微镜观察	2-3 周	免疫组化切片 电子实验报告

案例展示



小鼠肿瘤组织的 OCN 的免疫组化检测

免疫荧光（IF）技术服务

服务简介

免疫荧光技术根据抗原抗体反应的原理，先将已知的抗原或抗体标记上荧光基团，再用这种荧光抗体（或抗原）作为探针检查细胞或组织内的相应抗原（或抗体）。利用荧光显微镜可以看见荧光所在的细胞或组织，从而确定抗原或抗体的性质和定位，从而实现定位，定性，半定量的分析。

普健生物免疫荧光技术服务包括细胞培养、细胞爬片、染色和图片采集等

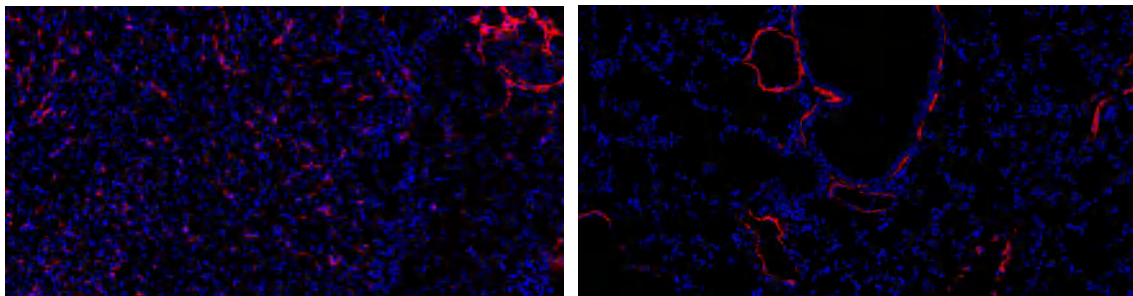
服务优势

1. 保证细胞活力，制作高质量的细胞爬片。多种细胞株库存以供选择使用
2. 实验室拥有多种常规抗体用于 IF 染色
3. 我们提供组织包埋、切片、细胞培养、细胞爬片、染色和图片采集的一站式技术服务

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
IF 服务	检测的组织、细胞和抗体 目的蛋白的基本信息	细胞爬片的制备 固定 通透 封闭 一抗结合 荧光二抗结合显色 封片及观察	2-3 周	技术服务报告 细胞爬片

案例展示



小鼠肿瘤 CD31 的 IF 检测

免疫共沉淀 Co-IP 服务

服务简介

免疫沉淀是以抗体和抗原之间的专一性作用为基础用于研究蛋白与蛋白间相互作用的经典方法，常被用于验证已知的两个蛋白质是否存在相互作用。将目的蛋白的抗体与样品提取液孵育，使抗体和蛋白质在溶液中结合。然后用 protein A/G 耦合的琼脂糖凝胶，从样品中将抗体 / 抗原复合物提取出来。这种物理方法可将所需蛋白质从样品中分离。然后样品可以通过 SDS-PAGE 进行分离并做 Western blot 分析。

普健生物免疫沉淀 Co-IP 可提供样品，抗体，珠子等各种实验试剂及耗材

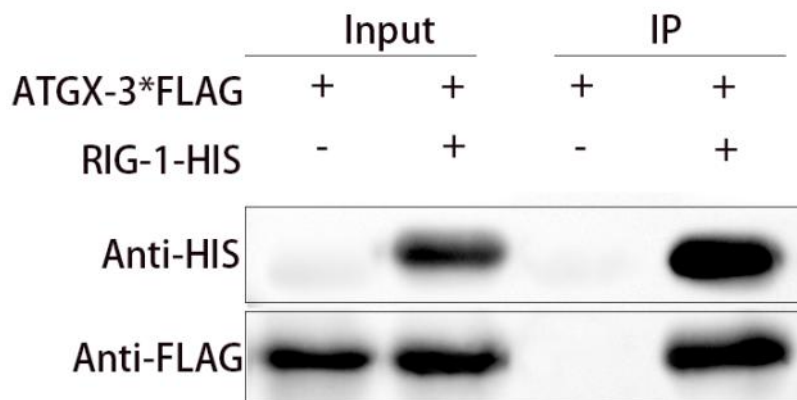
服务优势

1. 提供最优质裂解液，最大限度保留蛋白质天然构象。
2. 提供最优填料，确保最大程度结合蛋白

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
免疫沉淀 IP 服务	细胞或组织 目的蛋白信息 目的蛋白抗体	细胞或组织裂解 裂解液预清除 蛋白及抗体反应 复合物及珠子交联 蛋白及珠子分离 收集蛋白，WB 分析	2-3 周	免疫沉淀蛋白样品 WB 电子分析报告

案例展示



GST Pull-Down 技术服务

服务简介

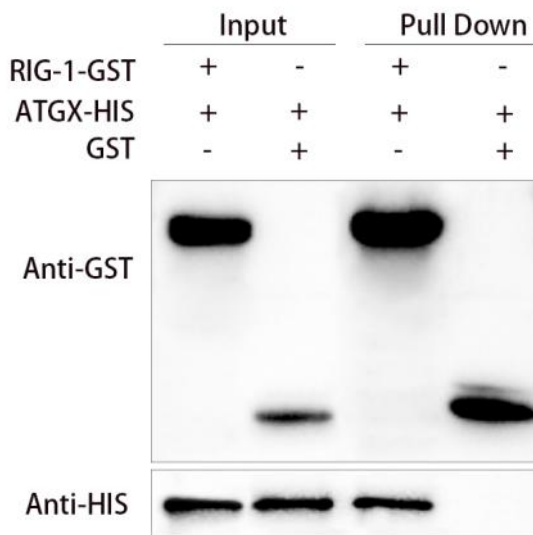
GST pull-down 实验是一个有效验证酵母双杂交系统的体外试验技术。将靶蛋白质-GST 融合蛋白质亲和和固定在谷胱甘肽亲和树脂上，作为与目的蛋白质亲和的支撑物，充当“诱饵蛋白质”，目的蛋白质溶液过柱，可从中捕获与之相互作用的“捕获蛋白质（目的蛋白质）”，洗脱结合物通过 SDS-PAGE 电泳分离，最后经 western blot，从而证实两种蛋白质间的相互作用。

“诱饵蛋白质”和“捕获蛋白质”均可通过细胞裂解物、纯化的蛋白质、表达系统以及体外转录翻译系统等方法获得，此方法简单易行，操作方便。

服务内容

服务内容	客户提供	服务步骤	服务周期	交付内容
GST 融合蛋白的表达	互作蛋白质名称、Gene ID、物种信息	构建表达纯靶蛋白与相关诱饵蛋白，或者客户提供含有诱饵蛋白的细胞裂解上清或者其它 体外 GST pull-down 实验	3-4 周	PAGE 电泳电子图片 western blot 原始图片及鉴定结果 实验报告（材料、仪器、方法、结果）
In vitro GST pull down	诱饵蛋白质及捕获蛋白质表达载体		1-2 周	
Western blot 检测	检测用一抗（我司也可提供）		1 周	

案例展示



部分文献引用

[1]Chen G, Zhang Y, et. Differential immune responses in pregnant patients recovered from COVID-19. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Jul 29;6(1):289. (IF=18)

[2]Wang D, Li S, et. Engineering a Second-Order DNA Logic-Gated Nanorobot to Sense and Release on Live Cell Membranes for Multiplexed Diagnosis and Synergistic Therapy. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2021 Jul 12;60(29) Epub 2021 Jun 11.(IF=15)

[3]Li L, Gao M, Li J, Zu S, et. Methods to Identify Immunogenic Peptides in SARS-CoV-2 Spike and Protective Monoclonal Antibodies in COVID-19 Patients. *Small Methods.* 2021 Jul 15;5(7) Epub 2021 Jun 19.(IF=14)

[4]Li Y, Li L, Wang Y, et. Pollen-Specific Protein PSP231 Activates Callose Synthesis to Govern Male Gametogenesis and Pollen Germination. *Plant Physiol.* 2020 Oct;184(2):1024-1041. Epub 2020 Jul 6.(IF=8.3)

[5]Wang Y, Dzakah EE,et. Development of anti-Müllerian hormone immunoassay based on biolayer interferometry technology. *Anal Bioanal Chem.* Epub 2019 Aug; (IF=4.1)

[6]Yu L, Shen H, et. Multi-omics analysis reveals the interaction between the complement system and the coagulation cascade in the development of endometriosis. *Sci Rep.* 2021 Jun 7 (IF=4.3)

[7]Cui ZJ, Gao M, et. Systems Pharmacology-Based Precision Therapy and Drug Combination Discovery for Breast Cancer. *Cancers (Basel).* 2021 Jul 17;(IF=6.6)

[8]Li L, Gao M,et. Methods to Identify Immunogenic Peptides in SARS-CoV-2 Spike and Protective Monoclonal Antibodies in COVID-19 Patients. *Small Methods.* 2021 Jul 15;5(7):2100058. doi: 10.1002/smt.202100058. Epub 2021 Jun 19. (IF=14.1)

[9]Wang D, Li S, et. Engineering a Second-Order DNA Logic-Gated Nanorobot to Sense and Release on Live Cell Membranes for Multiplexed Diagnosis and Synergistic Therapy. Epub 2021 Jun 11. (IF=15.3)

[10]Sui T, Wang X, et. GOLM1 suppresses autophagy-mediated anti-tumor immunity in hepatocellular carcinoma. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Sep 17;(IF=18.1)





[11]Chen G, Zhang Y, et. Differential immune responses in pregnant patients recovered from COVID-19. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Jul 29;(IF=18.1)

[12]Liu Z, Tian X, et. A Sensitive and High-Throughput Flow Cytometry-Based Assay for Measuring Antibody Neutralization of Human Adenovirus Type 3. *Virologica Sinica.* 2021 Jun; Epub 2020 Sep 29.(IF=4.32)

[13]Zhuang W, Liu J, et. hsa-miR-33-5p as a Therapeutic Target Promotes Apoptosis of Breast Cancer Cells via Selenoprotein T. *Front Med (Lausanne).* 2021 Apr 27;(IF=5.09)

[14]Zhuang W, Liu J, et. hsa-miR-33-5p as a Therapeutic Target Promotes Apoptosis of Breast Cancer Cells via Selenoprotein T. *Front Med (Lausanne).* 2021 Apr 27;(IF=5.09)

[15]Wang L, Zhan L, Zhao Y,et. The ATR-WEE1 kinase module inhibits the MAC complex to regulate replication stress response. *Nucleic Acids Res.* 2021 Feb 22;(IF=16.9)

[16]Chen J, Chen X, et. Individual phosphorylation sites at the C-terminus of the apelin receptor play different roles in signal transduction. *Redox Biol.* 2020 Sep;36:101629. doi: 10.1016/j.redox.2020.101629. Epub 2020 Jun 30.(IF=11.7)

[17]Cao H, Wang Y, et. Immunogenicity of Varicella-Zoster Virus Glycoprotein E Formulated with Lipid Nanoparticles and Nucleic Immunostimulators in Mice. *Vaccines (Basel).* 2021 Mar 25;(IF=4.4)

[18] Guillou C, Fréret M,et. Soluble alpha-enolase activates monocytes by CD14-dependent TLR4 signalling pathway and exhibits a dual function. *Sci Rep.* 2016 Mar 30;(IF=4.3)

[19] Wang M, Nie Y, Wu XL. Extracellular heme recycling and sharing across species by novel mycomembrane vesicles of a Gram-positive bacterium. *ISME J.* 2021 Feb;(IF=10.3)

[20] Li R, Liu J, Wu S, et. Toll-like receptor 4 signalling regulates antibody response to adenoviral vector-based vaccines by imprinting germinal centre quality. *Immunology.* 2018 Oct;(IF=7.3)

[21] Scutto A, Romond PC, Djorie S, Alric M, Romond MB. In silico mining and characterization of bifidobacterial lipoprotein with CHAP domain secreted in an aggregated form. *Int J Biol Macromol.* 2016 Jan;(IF=6.9)

实验室风采



企业风采



081

Atagenix
Laboratories



电话：027-87001869

邮箱：Sales@atagenix.com

网址：www.atagenix.cn

地址：武汉市东湖新技术开发区神墩四路666号C栋

