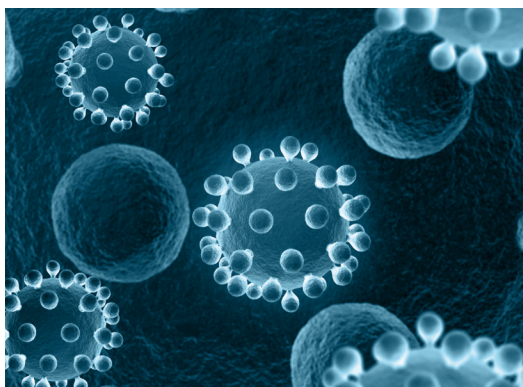




抗体定制技术服务手册

Antibody Custom Service Technical Handbook



武汉戴安生物技术有限公司

精益求精，至善至美

目录 Contents

多克隆抗体定制（蛋白质抗原）	4
多克隆抗体定制（多肽抗原）	5
磷酸化多克隆抗体定制	6
小鼠多克隆抗体定制	7
多克隆抗体动物免疫及纯化	8
单克隆抗体定制	9
配对单克隆抗体定制	10
抗独特型单克隆抗体定制	10
大肠杆菌重组蛋白表达	11
诊断原料开发相关技术服务	12
附一	13
附二	14

关于我们

武汉戴安生物技术有限公司位于武汉光谷生物城生物技术研究院，是一家由资深免疫学专家和海外留学人员创建的高科技创新型企业，专注于免疫学和蛋白质定量技术。公司拥有完善的蛋白质表达体系，研发人员拥有十余年从业经验，技术积累深厚，设备精良完善，在重组蛋白质表达纯化、天然蛋白质提取、抗体研发和生产方面达到行业顶尖水平。公司已成功建立多元化的蛋白质表达及定量技术平台，凭借多年的抗体研发和生产经验，可制备高亲和力，高效价，高特异性的抗体定制产品，满足客户在WB、IHC、IP、IF、CHIP等实验方面的需求，特别是在斑马鱼、线虫、病毒、拟南芥、蓝藻、棉花、玉米、水稻、马铃薯等物种的抗体制备上拥有丰富的经验。另外，公司研发团队在单抗、配对单抗、中和抗体制备等高端技术研发和生产上实力较强，能为科研人员提供优质完善可靠的保证型单克隆抗体及单抗配对的定制服务。



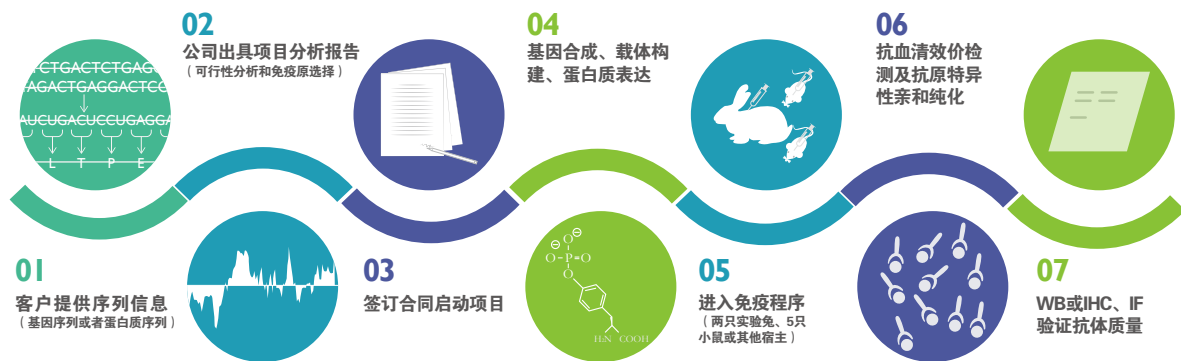
我们秉承“精益求精，至善至美”的使命，追求“便捷，精确，真实”的客户体验，以创新推动产业发展，以实干满足市场需求，以口碑获得客户信赖！

多克隆抗体定制 (蛋白质抗原)

服务介绍

多克隆抗体能够识别多个抗原表位，同时具有制备周期短、成本低、应用广泛等优点已成为科研人员进行免疫学研究不可或缺的重要工具。戴安生物凭借多年抗体研发和生产经验，可以提供兔、大鼠、小鼠、豚鼠、羊等多个宿主在内的多抗制备。已成功定制过以下多种属蛋白质抗体：斑马鱼、鲫鱼、草鱼、线虫、病毒、拟南芥、蓝藻、棉花、玉米、水稻、马铃薯、油菜等，实战经验丰富，充分保证抗体定制的成功率。

定制流程



最终交付

- 亲和纯化抗体5-10mg
- 重组蛋白质小样100ug
- 兔血清90ml (其他宿主另计)
- 亲和纯化柱
- 项目服务报告

项目周期：3个月
价格：7200元

服务承诺：

- » 客户进行内源性Western Blot、IP或过表达检测小样后能够检测到目的条带 (说明抗体验证合格)；
- » 内源性Western Blot、IP或过表达检测阴性无法满足实验需要，说明此抗体订单验证失败，则客户无需再付此项目剩余尾款；
- » 间接ELISA检测抗血清效价，针对免疫原效价不低于1:160,000；
- » 客户有权随时了解服务项目进展情况，并对成果拥有全部所有权。

多克隆抗体定制 (多肽抗原)

服务介绍

在蛋白质抗原难以获得，或对抗体特异性要求很高的情况下，多肽抗原显示出其独特优势。与蛋白质抗原相比，多肽抗原制备容易，快速，价格较低，设计方案可选择空间更大，是一种常用的免疫原。当客户需要区分同源性较高的家族蛋白质时，或需要制备磷酸化，甲基化，乙酰化等修饰性抗体时，多肽就成为重要或者唯一的免疫原选择。但是，多肽免疫原也具有其局限性，一般说来，多肽免疫原制备的抗体识别的是线性抗原决定簇，对其应用有一定限制。

定制流程



最终交付

- 亲和纯化抗体5-10mg
- 未连接KLH的多肽10mg
- 兔血清90ml (其他宿主另计)
- 亲和纯化柱
- 项目服务报告

项目周期: 3个月
价格: 6000元

服务承诺:

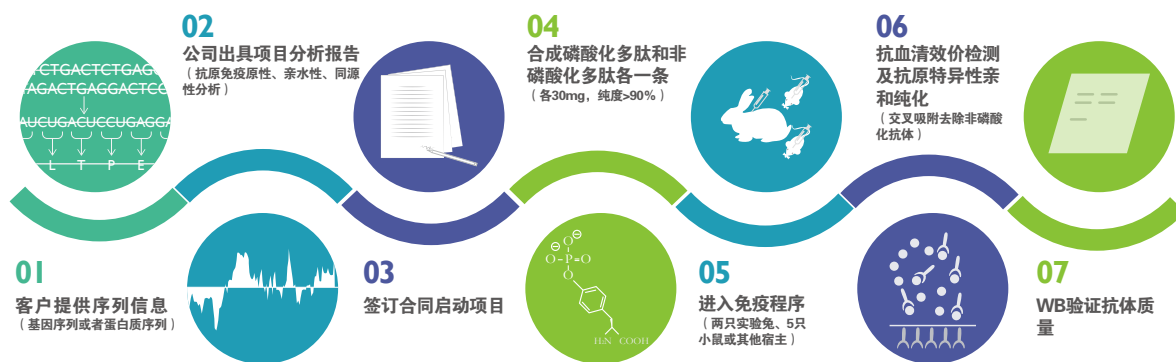
- » 客户进行内源性Western Blot、IP或过表达检测小样后能够检测到目的条带 (说明抗体验证合格);
- » 内源性Western Blot、IP或过表达检测阴性无法满足实验需要, 说明此抗体订单验证失败, 则客户无需再付此项目剩余尾款;
- » 间接ELISA检测抗血清效价, 针对免疫原效价不低于1:160,000;
- » 客户有权随时了解服务项目进展情况, 并对成果拥有全部所有权。

磷酸化多克隆抗体定制

服务介绍

翻译后修饰对蛋白质生物学功能至关重要，在生命现象的许多关键调节机制中发挥重要作用，其中蛋白质的磷酸化是最常见的重要翻译后修饰之一，它参与了体内几乎所有的细胞活动，与信号传导，细胞周期，生长发育以及癌症机理等诸多生物学问题有密切关系。戴安生物凭借多年经验和技術积累，制备的磷酸化特异性抗体，不识别非磷酸化抗原，具有高度的特异性和灵敏度。

定制流程



最终交付

- ◎ 亲和纯化抗体5mg
- ◎ 未连接KLH的多肽5mg
- ◎ 兔血清90ml (其他宿主另计)
- ◎ 亲和纯化柱
- ◎ 项目服务报告

项目周期：3个月
价格：9800元

服务承诺：

- » 客户进行内源性Western Blot、IP或过表达检测小样后能够检测到目的条带（说明抗体验证合格）；
- » 内源性Western Blot、IP或过表达检测阴性无法满足实验需要，说明此抗体订单验证失败，则客户无需再付此项目剩余尾款；
- » 针对免疫原效价不低于1:160,000；与非磷酸化多肽的交叉反应<10%
- » 客户有权随时了解服务项目进展情况，并对成果拥有全部所有权。

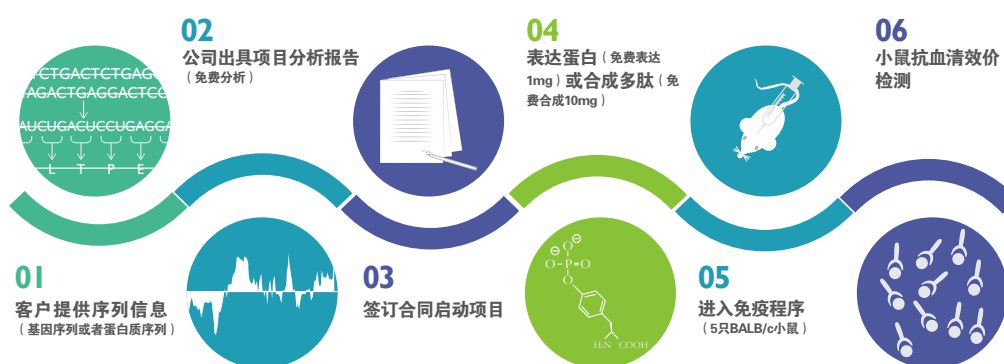
注：戴安生物另外可提供甲基化、乙酰化、琥珀酰化等修饰性抗体定制。

小鼠多克隆抗体定制

服务介绍

小鼠多克隆抗体制备使用戴安生物自主研发的快速新型免疫佐剂，可在5周（35天）时间内获得高滴度的小鼠多克隆抗体。与常规使用兔子和弗氏佐剂制备多克隆抗体相比，本服务具有抗原用量少（20 μg 每针）、制备周期短、抗体效价高、抗体背景低等诸多针对构象型抗原表位的多克隆抗体的优点。

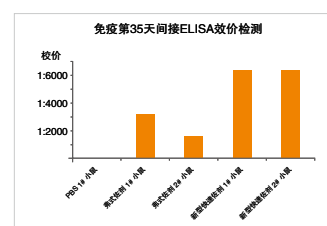
定制流程



最终交付

- ◎ 抗血清500ul/只小鼠
- ◎ 蛋白质或者未连接的多肽小样一份
- ◎ 项目服务报告

项目周期：2个月
价格：4500元



服务承诺：

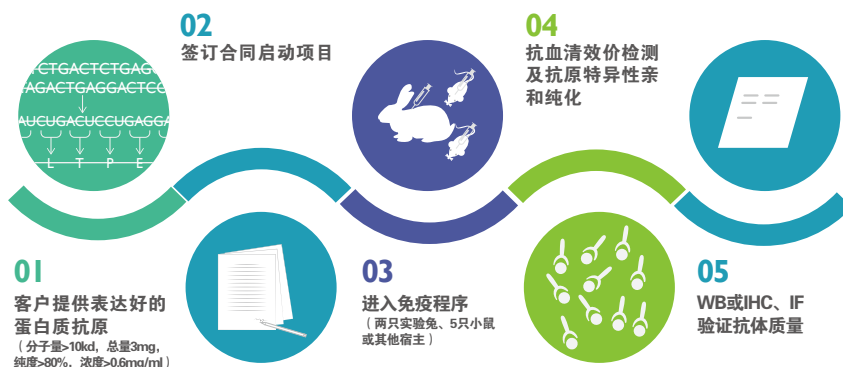
- » 客户进行内源性Western Blot、IP或过表达检测小样后能够检测到目的条带（说明抗体验证合格）；
- » 内源性Western Blot、IP或过表达检测阴性无法满足实验需要，说明此抗体订单验证失败，则客户无需再付此项目剩余尾款；
- » 针对免疫原效价不低于1:160,000；
- » 客户有权随时了解服务项目进展情况，并对成果拥有全部所有权。

多克隆抗体动物免疫及纯化

服务介绍

客户提供表达好的蛋白质，多肽抗原或者小分子蛋白质，由我公司使用新型快速免疫佐剂，经过优化和验证的免疫方案，也可根据客户的要求选择短周期或者标准周期进行动物免疫，最终提供抗原特异性亲和纯化的抗体。

定制流程



最终交付

- ◎ 亲和纯化抗体5-10mg
- ◎ 兔血清90ml (其他宿主另计)
- ◎ 亲和纯化柱, 项目服务报告

**免疫周期: 短周期45天
标准周期65天**

价格: 3800元

服务承诺:

- » 间接ELISA检测抗血清效价, 针对免疫原效价不低于1:160,000;
- » 客户有权随时了解服务项目进展情况, 并对成果拥有全部所有权。

注: 小分子蛋白质我公司可帮助偶联KLH、BSA或其他载体蛋白, 其他抗原类型请具体咨询。

单克隆抗体定制

服务介绍

单克隆抗体是杂交瘤细胞产生的针对单一抗原决定簇的免疫球蛋白，其最大的优势是特异性强、灵敏度高及强大的批次稳定性。近年来单克隆抗体对蛋白质研究、药物筛选、疾病（包括癌症）的诊断、预防和治疗等，均展示出重要的研究价值。

戴安生物凭借多年的抗体研发和生产经验，进一步对单克隆抗体生产、筛选、纯化、检测等服务流程进行全方位升级。尤其在诊断用单抗，药物筛选用单抗制备方面拥有行业领先核心技术。最新推出的保证型单克隆抗体定制服务，不成功不收费（保证识别内源性样本）。

定制流程



注：

- 1、客户提供表达好的蛋白质抗原（分子量>10kd，总量1mg，纯度>80%，浓度>0.6mg/ml）；
- 2、药物小分子或其他抗原类型及要求请来电咨询。

配对单克隆抗体定制

抗体对在蛋白质定量中有广泛应用，双抗夹心 Elisa、化学发光和荧光免疫层析，都离不开高质量的抗体对。戴安生物技术有限公司研发团队拥有多年单抗及 Elisa 试剂盒开发经验，特向科研人员和工业客户提供优质可靠的配对单抗定制服务。

戴安生物提供的配对单抗定制服务的筛选方法，基于双抗体夹心 Elisa 检测。双抗体 Elisa 夹心法 (Sandwich Elisa) 的原理是将特异性抗体（捕获抗体）结合到固相载体上形成固相抗体，然后加入待检样品，捕获抗体与待检样品的抗原结合形成免疫复合物，洗涤后再加酶标记抗体（检测抗体），与免疫复合物中抗原结合形成酶标抗体-抗原-固相抗体复合物，加底物显色后，即可判断抗原含量，具有高灵敏度、高专一性，抗原无须事先纯化的优点。但捕获抗体与检测抗体必须精心选取，才可避免交叉反应或竞争相同的抗原结合部位。

抗独特型单克隆抗体定制

中和抗体属于抗独特型抗体定制服务中的其中一项，抗独特型抗体定制又分为单克隆抗独特型抗体和多克隆抗独特型抗体定制。

每一种特异性抗体可变区所具有的抗原特异性，被称为抗体独特型 (antibody idiotypic)。针对抗体可变区的独特型的抗原表位，产生的特异性抗体，称为抗独特型抗体 (anti-idiotypic antibody; antiidiotypic antibody, Aid)，也称为抗抗体。

用抗体分子免疫动物，可能会产生若干种抗独特型抗体，其中由抗原结合部位 (epitope) 的独特型序列产生的抗体，具有中和活性，能够完全阻抑抗原与抗体的结合，与抗原决定簇分子互为“内影像”关系，可模拟抗原结构和功能的作用。这类抗体可以用于抗独特型疫苗研制，具有低毒，易于制备等优点；在抗体药物的药代动力学 (PK) 研究和抗体药物免疫原性检测方面依然具有重要作用。

武汉戴安生物技术有限公司结合多年的抗体研发经验，向抗体药物开发企业和科研院所推出单克隆抗独特型抗体制备服务。其可重复制备，批间差异小，已经成为独特型抗体的主流产品。

大肠杆菌重组蛋白表达

服务介绍

大肠杆菌表达系统具有表达效率高、培养周期短、抗污染能力强、遗传背景清楚、经济实惠等多种优势，是基因表达技术中发展最早，应用最广泛的经典表达系统，近几十年，大肠杆菌表达系统也得到不断的发展和完善，被科研及工业用户大量用于各种重组蛋白表达。

戴安生物科研技术人员已建立了成熟的大肠杆菌表达及纯化服务平台，提供包括各种重组蛋白及其复合物在大肠杆菌中的表达与纯化服务。

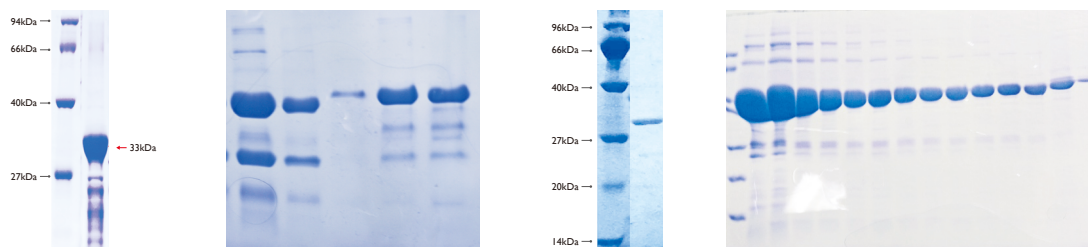
原核表达系统(大肠杆菌表达系统)服务项目

项目名称	项目内容	服务周期	价格(元)
基因合成	长度<1000bp的基因合成	1周	1000
载体构建	可选择不同载体，不同标签His, Trx, GST, SUMO等	1周	500
小规模蛋白表达及纯化 (1mg)	不同诱导剂，诱导温度，转化、表达条件测试，摇瓶培养1L重组菌液	2周	2998
大规模蛋白表达及纯化	可选择摇瓶或者发酵罐培养(50-300L)	根据体积决定	询价

服务承诺：

- » 戴安生物可提供多种大肠杆菌表达菌株，辅以不同的表达条件，确保可溶性表达，对已表达过的1千种蛋白质分析结果表明，我公司可溶性表达成功率高达95%。
- » 结合基因设计及密码子优化、蛋白表达及纯化处理，我公司原核表达的蛋白质纯度在90%以上。
- » 提供蛋白质表达服务报告，附测序报告，诱导条件，纯化条件及SDS-PAGE鉴定结果。

蛋白质表达部分案例展示



诊断原料开发相关技术服务

戴安生物不仅提供优质的科研用抗体产品开发，也为诊断试剂公司和科研客户提供一流的诊断原料相关技术开发服务，包括蛋白质表达纯化、多抗单抗制备、配对单抗开发等相关技术服务。

戴安生物具有完善的诊断原料开发平台

1. 按照行业内最高标准制备，精心设计免疫和纯化方案，制备出高特异性抗体，确保产品的特异性和稳定性，批间差异小于 10%。
2. 独立研发生产的生化免疫比浊抗体原料 SAA, PCT, NGAL, B2M 等已通过工业客户的验证，并被批量采购。
3. 独立研发生产的单克隆抗体对产品：SAA 单抗对、AFP 单抗对、NMP22 单抗对已被客户验证合格。

戴安生物本着精诚合作，互利互信的原则，签订合同即可开展服务项目，充分保证客户对服务项目成果的所有权，有权随时了解项目进展，避免专利纠纷。欢迎广大企业客户洽谈技术开发服务及相关合作事宜。



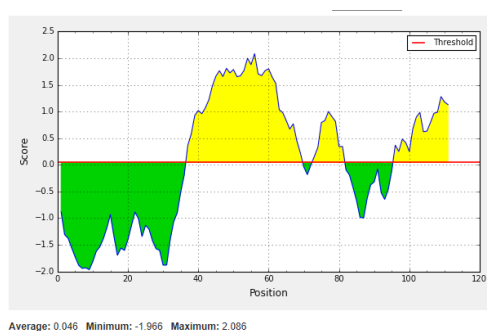
附一

抗原序列分析报告

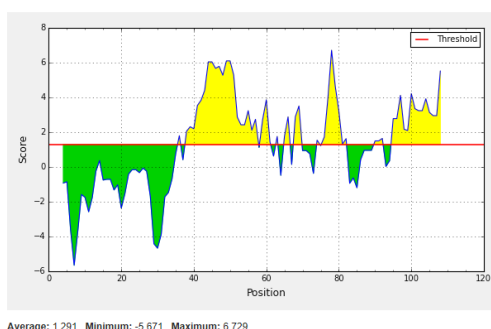
1. 全长蛋白质序列

mdsvlhvlidglvacaqliriadellqfilqvqevpyveengraeeteadaplppeepsldplpdlslsiltprededlfldidqamldmdnl
yedtvsginddltgd

2. 全长蛋白质免疫原性分析：N 端较差，中部及 C 端较好。



3. 全长蛋白质亲水性分析：N 端较差，中部及 C 端较好。



4. 全长蛋白质跨膜区分析：设计抗原尽量避开跨膜区段。

5. 与同种属其它蛋白质同源性比对分析：确定免疫原和其他蛋白质没有同源性是保证抗体特异性的基本要求。

众所周知，抗原选择是定制抗体能否成功的关键因素，我公司特提供以下建议和意见供参考：

1. 实际案例表明：表达蛋白质作为抗原相比多肽抗原制作抗体成功率要高，我公司建议客户首选表达蛋白质作为抗原。

2. 建议表达截短的蛋白质，这样可以保证蛋白质的抗原性，亲水性，特异性都是最好，我公司针对动物免疫的客户提供免费蛋白质序列分析。

3. 表达蛋白质作为抗原制备的抗体，能够更好的识别天然蛋白，应用更广泛，比如同时满足 WB、IP、IHC、IF 等实验的几率更大。

附二

蛋白质可溶性表达及纯化方法

1. 将测序正确的质粒转化宿主菌（常用 BL21 DE3），过夜培养后，挑取单菌落，于小试管内进行 IPTG 诱导实验，即 37℃ 培养至 OD600 为 0.6 后，加入 1mM IPTG，37℃ 继续培养 3h。将全菌液收集后破碎，SDS-PAGE 电泳检测，选取表达量高的单菌落进行大量表达。

2. 将含少量接种至 200ml 抗性 LB 培养基中，37℃ 振荡培养过夜，次日加入新鲜抗性培养基至 800ml，37℃ 培养至 OD 为 0.6。加入 200ul 的 1M IPTG(28℃ 或 37℃) 诱导培养 3.5h。

3. 离心收集菌体，6000g 离心 10min。将菌体悬浮于相应的裂解缓冲液中，洗涤一次，6000g 再次离心 10min，将菌体悬浮于预冷的相应的裂解缓冲液中，体积为培养基体积的 1/5。

4. 超声波破碎细菌，控制功率为 300W。工作条件为超声 3s，暂停 2s，共 30 次，以冰浴降温。若还有块状物或者沉淀，可再重复一次。在 4℃ 以 20000g 高速离心 30min 收集上清，保存于 -20℃ 或立即进行层析纯化。

1. 配制如下溶液：

6xHIS 裂解缓冲液（用于裂解含 6xHIS Tag 的重组蛋白）

50mM Tris-HCl 缓冲液，pH8.0；10mM imidazole；150mM NaCl；0.1% TritonX-100；10% 甘油；使用前加入 PMSF，使其终浓度为 200ug/mL；

6xHIS 洗涤缓冲液（用于洗涤含 6xHIS Tag 的重组蛋白）

50mM Tris-HCl 缓冲液，pH8.0；20mM imidazole；150mM NaCl；0.1% TritonX-100；10% 甘油；使用前加入 PMSF，使其终浓度为 200ug/mL；

6xHIS 洗脱缓冲液（用于洗脱含 6xHIS Tag 的重组蛋白）

50mM Tris-HCl 缓冲液，pH8.0；200mM imidazole；150mM NaCl；0.1% TritonX-100；10% 甘油；使用前加入 PMSF，使其终浓度为 200ug/mL；

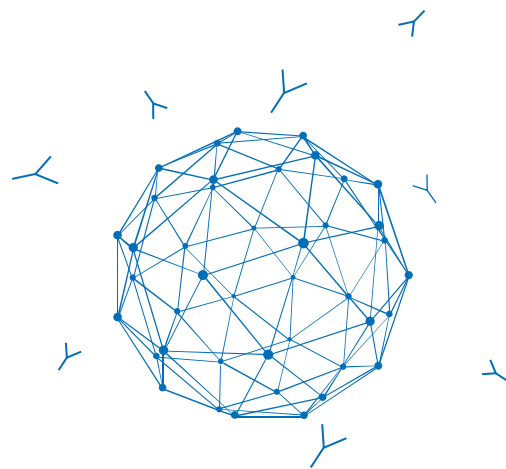
2. 将表达有目的蛋白的 Rosetta 菌用 6xHIS 裂解缓冲液溶解，超声破菌，离心，取上清以 1 mL/min 泵送至 6xHIS 裂解缓冲液预先平衡的 Ni-NTA Superflow 层析柱 (10mL, 15X1cm)，6xHIS 裂解缓冲液洗涤至基线水平后，再用 3 倍柱体积 (30mL) 的 6xHIS 洗涤缓冲液洗涤，最后用 1 倍柱体积 (10mL) 的 6xHis 洗脱缓冲液洗脱。

3. 在得到表达蛋白——抗原之后，通过 SDS-PAGE 检测该蛋白的分子量大小、浓度，从而判断该蛋白分子量与理论值是否相符，并且确定免疫动物时注入的量（一只兔子需要的免疫剂量为 1mg 蛋白质抗原）。

4. 将收集到的融合蛋白放入 -20℃ 冰箱保存，避免反复冻融。

精益求精，至善至美





WE FOCUS ON PRECISE
PROTEIN QUANTIFICATION

QB Quan
Biotech
戴安生物

武汉戴安生物技术有限公司

联系方式: 027-59325199 15387173921

邮箱地址: service@quanbiotech.com

公司网址: <http://www.quanbiotech.cn>

公司地址: 武汉市高新大道666号光谷生物城生物技术研究院B7栋

