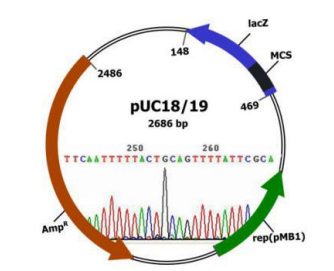
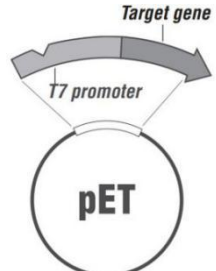
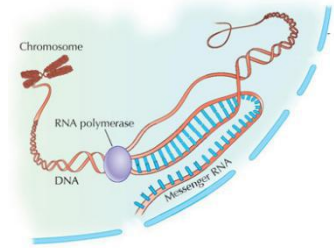
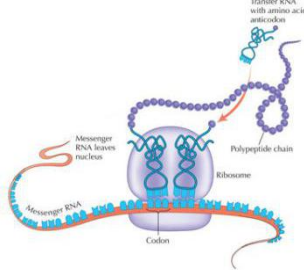


密码子优化、mRNA 结构优化及基因表达优化

摘要：密码子优化是基因表达优化的关键步骤之一。其中涉及 mRNA 二级结构、稀有密码子、核糖体结合位点等关键因素。简单说，基因能否顺利表达蛋白与稀有密码子含量、mRNA 结构是否阻碍翻译有很大关系。德泰开发的生物信息学软件 MaxCodon™ 经过近千个项目实践的优化，可以几乎完美地优化这些关键因素，为蛋白表达提供坚实基础。基因表达优化还包括载体，表达系统特异性，表达条件优化。

密码子优化

密码子优化涉及的优化点可以从基因合成、载体构建、基因转录、mRNA 翻译、翻译后修饰等过程中提取，目的只有一个，就是便于相关过程的高效达成。以下是部分优化内容：

	基因合成 平衡 GC 含量 正反向重复序列 二级结构		表达载体构建 目标基因上下文 酶切位点
	基因转录 平衡 GC 含量 平衡 CpG 岛 SD 序列 Kozak 序列 TATA 框 Chi 位点 终止信号 隐蔽剪切位点		mRNA 翻译及折叠 密码子偏好性 GC 含量 polyA 位点信号 mRNA 二级结构 核糖体绑定位点

特定功能的 Motif

许多 motif 在基因表达过程中承担着重要的角色，随着研究的不断开展，功能性 motif 也在不断被发现，我们会将其不断地添加到南京德泰生物的密码子优化工具中。举例如下：

- TATA 框：是构成真核生物的启动子元件之一，位于转录起始点上游-30bp 处，它可以保证转录的正确定位。
- SD 序列：作为原核表达的核糖体绑定位点，是翻译必不可少的信号。

- Kozak 序列：真核生物中符合 Kozak 规则的基因，其转录及翻译效率较好。
- Chi 序列：在原核生物中能够增加自然重组的几率，可能会影响人工重组蛋白的表达。
- 隐蔽剪切位点：真核生物中存在大量的隐蔽剪切位点 (cryptic splice sites)，一旦被激活，会造成 mRNA 的剪接偏离我们的预期。

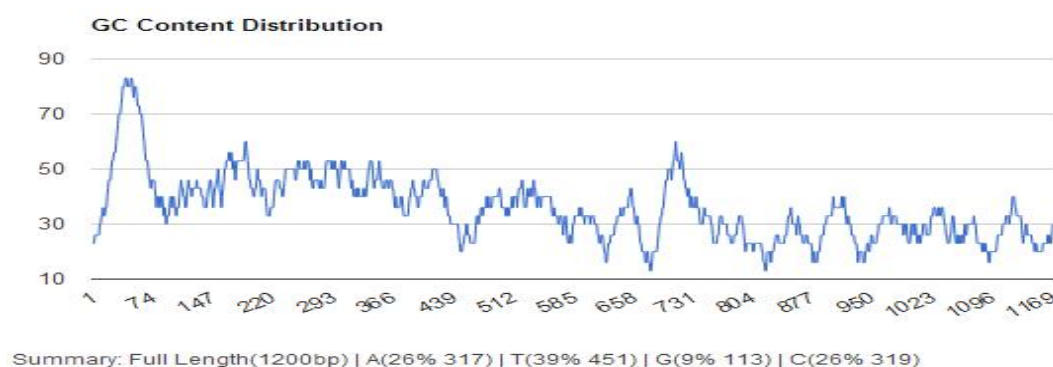
仔细研究转录、翻译的过程，并不断阅读基础资料及最新研究进展，不断搜集相关的 motif 模式，我们南京德泰生物在不断完善密码子优化算法。在载体设计上，我们要通盘考虑。当然，部分 motif 已经固化到了商业载体上了。

重复序列

重复序列过多，会增加基因合成的难度。反向互补序列也对 mRNA 二级结构有重要影响。

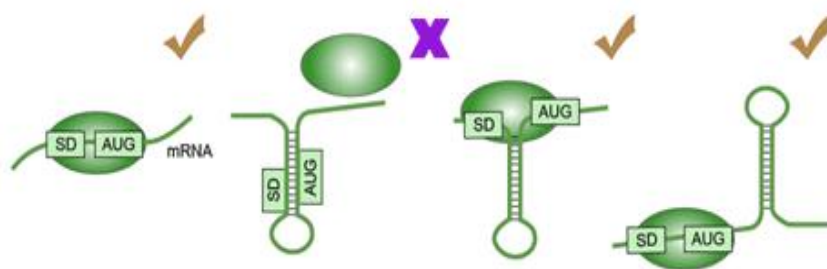
GC 含量

相对于 AT 配对需要 2 个氢键，GC 配对是 3 个氢键，GC 含量直接影响着 PCR 退火温度。在启动子等保守区域 GC 含量相对较高。GC 含量也影响着 mRNA 热力学稳定性及 mRNA 二级结构。



mRNA 二级结构

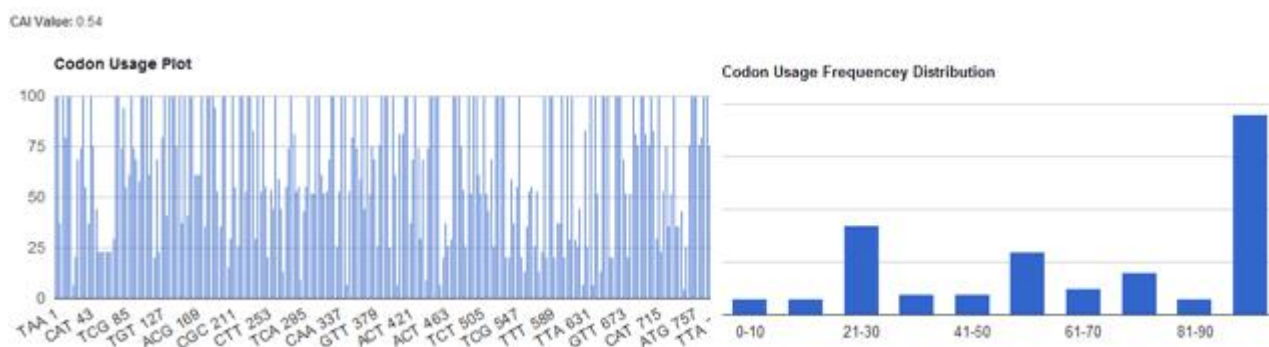
mRNA 二级结构是影响翻译过程的重要因素，复杂稳定的二级结构会阻碍翻译过程的顺利进行，特别是核糖体结合位点 (RBS) 附近的二级结构。mRNA 的二级结构预测是一个复杂的过程，需要考虑碱基配对、自



由能等多种因素，南京德泰生物的密码子优化系统可以快速有效识别发卡（Hairpin）结构区并进行有效规避。

密码子偏好性

不同物种的种属之间，对同义密码子的使用频率是不同的。在外源基因的同义密码子使用频率与表达宿主相匹配的情况下，外源基因的表达水平会显著提高。常用密码子适应指数（Codon Adaption Index）来表示。



限制性酶切位点

限制性酶切位点需要根据实际情况进行排除，以免与需要用到的酶切位点产生冲突，影响重组基因的操作。

更多优质服务推荐

1

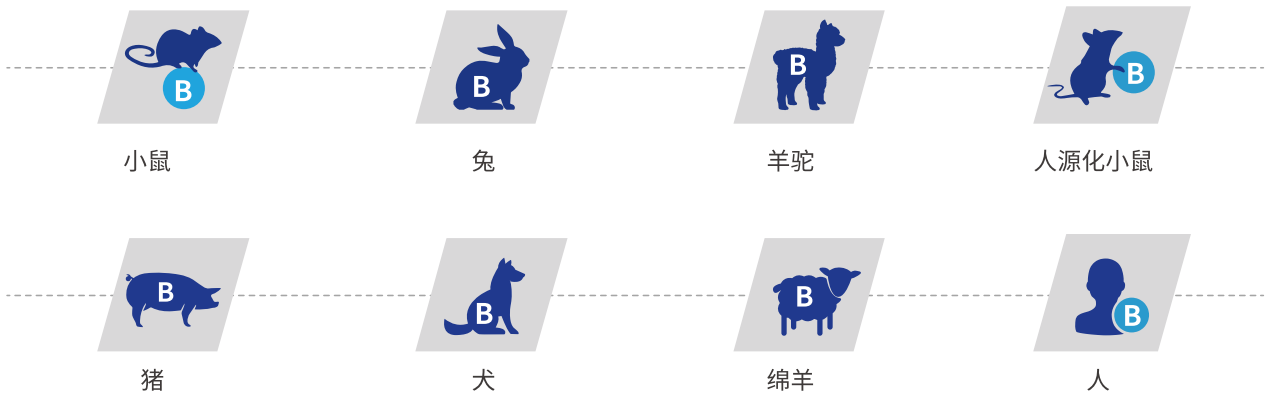
SingleB® mAb Discovery Service SingleB®单B细胞快速单抗发现

德泰生物提供SingleB®单B细胞快速单抗发现服务,利用SmartFlow® FACS记忆B细胞筛选平台与DeepLight®浆细胞筛选平台,实现记忆B细胞与浆细胞的双筛选。平台适用于小鼠、兔、羊驼、人源化小鼠、绵羊等多种免疫对象,从动物免疫到获得单抗,快至29天,比传统杂交瘤技术至少节省120天。

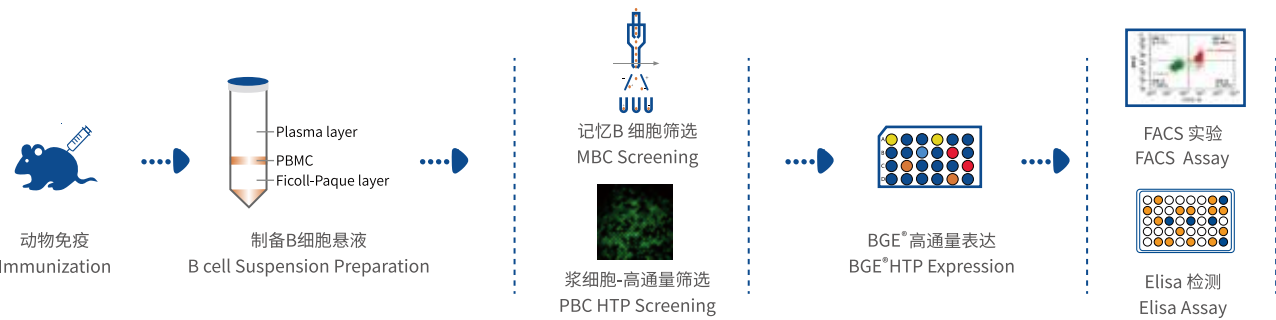
平台优势

 支持蛋白、多肽、细胞、病毒等多种类型抗原免疫	 记忆B细胞 & 浆细胞双筛选,保证B细胞多样性
 单细胞扩增阳性率高,无需刺激培养,减少多样性损失	 重轻链天然配对,亲和力更优
 高通量,周期短,单抗发现快至29天	 ELISA、FACS、WB、IHC等多平台验证

可开发单抗物种



服务流程





Recombinant Antibody Expression Service

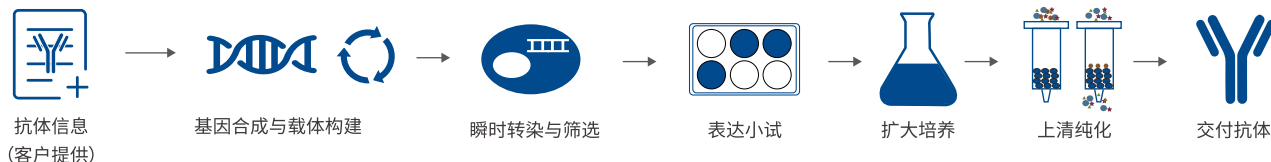
重组抗体表达

德泰生物拥有完善的重组抗体表达与纯化体系、抗体多工艺质量验证体系。已交付的重组抗体项目种类包括scFv、Fab、 $(\text{Fab}')_2$ 、VHH、嵌合抗体、双特异性抗体、Fc融合蛋白、全长IgG、IgM。cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器用于HEK293/CHO细胞的小试及大量培养。HPLC纯度、内毒素、浓度等要求均可以根据您的下游应用进行定制。

服务优势



服务流程

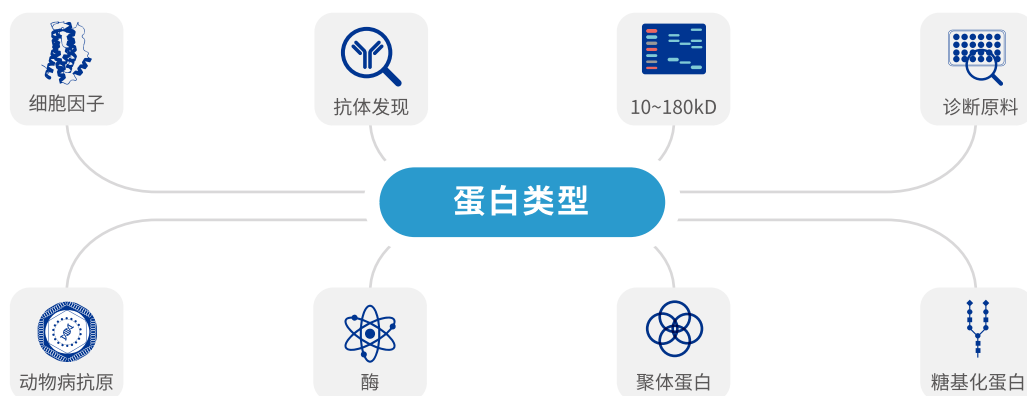


Recombinant Protein Expression Service

重组蛋白表达

原核蛋白表达系统、哺乳动物细胞蛋白表达系统

德泰生物拥有完善的原核蛋白表达与纯化体系和哺乳动物细胞蛋白表达与纯化体系。基于细胞因子、酶、诊断原料蛋白的工业化需求，我们配备了发酵设备并推出了大规模发酵制备服务；我们还配备了cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器，用于HEK293/CHO等真核细胞的小试及大量培养。



4 Hybridoma Antibody Gene Sequencing Service

杂交瘤抗体基因测序

德泰生物拥有mRNA全长测序平台和Failsafe®假基因排除技术,能够提供快速、可靠的杂交瘤抗体基因测序服务。

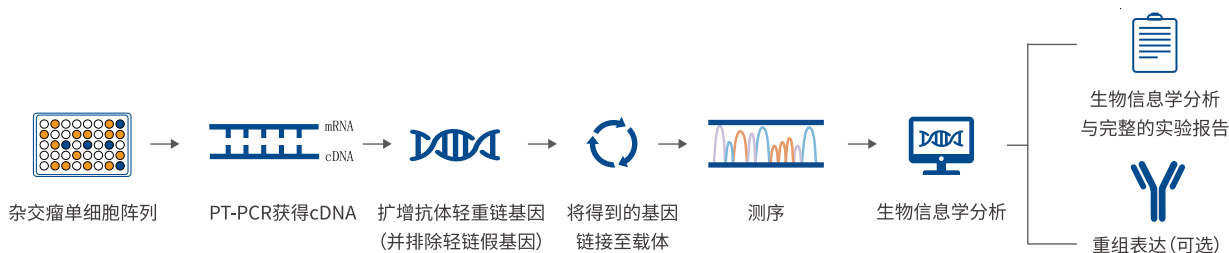
应用场景

- 抗体序列保护:获取抗体基因序列后可通过专利对CDR区进行保护。
- 生产方式备份:杂交瘤存在退化转阴风险,抗体序列可通过基因工程方式轻松转化为抗体样品。
- 抗体工程改造:获得的抗体序列可用于抗体人源化、双特异性抗体等抗体工程改造。

服务优势

- 极速体验:测序5天,表达5天,全程高通量
- 细胞需求少:只需1~5个细胞,可以接收孔板样品
- 保证测序结果准确:采用Failsafe®假基因排除技术,可排除k轻链假基因
- 测序范围广:可测小鼠、大鼠、兔、羊等物种的IgM和IgG的所有亚型
- 一站式服务:德泰生物拥有丰富经验,可提供表达验证服务

服务流程

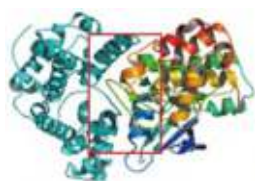


5 Biomolecular Interaction Analysis Service

分子间相互作用检测

德泰生物提供的分子间相互作用检测服务基于表面等离子共振 (SPR) 平台及生物膜干涉技术 (BLI) 平台,能够实现对分子间亲和力的定量和定性分析。与传统的GST pull down, 免疫共沉淀, 酵母双杂交等相比, 具有更高的灵敏度、检测通量及较低的样品要求等优点。

检测范围



蛋白和蛋白



蛋白和小分子



蛋白和抗体



蛋白和抗体Fab片段

检测范围包括蛋白-蛋白、抗体-抗原、抗体片段-抗原、蛋白-抗体、蛋白-小分子、抗体-多肽、蛋白-DNA、DNA-DNA间的相互作用。



Antibody Humanization Service

抗体人源化

德泰生物人源化改造服务基于人工智能之深度学习算法,通过构建抗体结构模型、CDR移植与回复突变、识别关键氨基酸及人源化运算,获得人源化程度高且突变能低的抗体序列。

服务优势



重链和轻链同时参与优化



改造后的抗体人源化程度>90%



人源化抗体的亲和力与初始抗体相当



可进行多物种的抗体人源化

服务流程

- 1 Antibody sequence confirmation
- 2 Human germline acceptor selection
- 3 CDR grafting
- 4 Back mutation
- 5 Mutation energy ranking
- 6 Antibody expression
- 7 Affinity ranking



Stable Cell Line Development Service

生产型稳转细胞株构建

德泰生物提供高表达哺乳动物稳定细胞株构建服务,筛选过程使用先进的可视化DeepLight®单克隆细胞筛选平台,较传统筛选流程快近100天,大大缩短了稳定细胞株的开发周期。

DeepLight®细胞筛选平台的优势

	有限稀释法筛选	DeepLight® On-chip筛选
筛选时间	8周	1天
细胞分离效率	低	高
筛选通量	低	高
单细胞水平筛选	否	是

服务流程



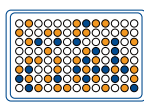
基因合成&质粒抽提



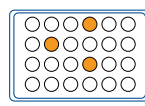
稳定转染



On-chip筛选



压力筛选



扩大培养



交付单克隆细胞株

服务优势



更快的筛选速度

从DNA到细胞株
较传统方法快近100天



百k级筛选通量

一次筛选640k细胞
优选高表达细胞株



可视化筛选结果

先进DeepLight®平台
高表达细胞株实时成像



稳定高产

可稳定转代50代
重组单抗可达5 g/L