

噬菌粒和辅助噬菌体

噬菌粒结构

噬菌粒是一种对丝状噬菌体进行人工改造得到特殊类型的载体，兼具了丝状噬菌体与质粒的优点，由单链噬菌体包装序列、复制子以及质粒复制子、克隆位点、标记基因等部分组成。噬菌粒具有基因组较小可插入较大片段、复制型为双链 DNA 易于操作、转化效率高、产生的重组子更加稳定等优点。

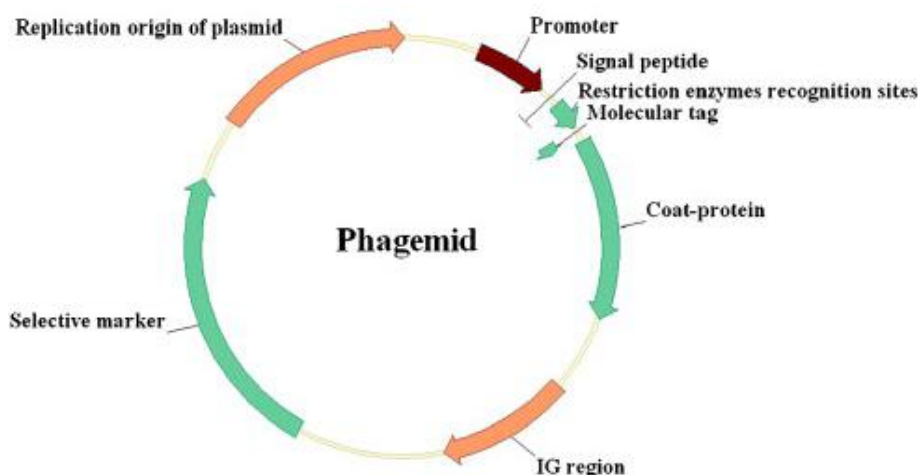


图 1：噬菌粒结构

相关阅读：[pCANTAB 5E 噬菌体展示系统](#)

噬菌粒的原件及其特点

衣壳蛋白

丝状噬菌体有 pⅢ、pⅧ、pⅥ、pⅨ五种衣壳蛋白，这五种蛋白都可以用来进行多肽的展示，但最常用的是 pⅢ和 pⅧ蛋白。

启动子

启动子是表达载体的核心元件，噬菌粒载体最常用的启动子有乳糖启动子、阿拉伯糖启动子、碱性磷酸酶启动子和 T7 启动子。

信号肽

噬菌粒载体信号肽通常选择 Sec-识别信号或 SRP-识别信号肽。研究表明，Sec-识别信号肽适合展示分泌蛋白，如抗体；SRP-识别信号肽适合转运折叠比较迅速的蛋白，如锚定蛋白。

基因间隔区 (IG region)

基因间隔是 DNA 的一个片段，不属于编码区。在噬菌粒进入宿主细胞质后，IG 区的单链 DNA 复制起始位点（噬菌体 ori 区域）会被 PⅡ蛋白识别进而引发单链 DNA 的生成。

噬菌粒生命周期

噬菌粒作为一种特殊的质粒，可以像一般的质粒那样被复制，也可以在病毒体内作为单链 DNA 被包装。

噬菌粒的生命周期通常为：将外源基因以双链形式定向整合至噬菌粒，然后通过化学转化或电转等方式转入宿主细胞。由于噬菌粒中除了 PⅢ蛋白基因以及欲在噬菌体上展示的外源基因外，没有任何噬菌体功能基因，导致噬菌粒不能独立合成单链 DNA，因此，需要在辅助噬菌体的帮助下才可以完成对宿主细胞的侵染。

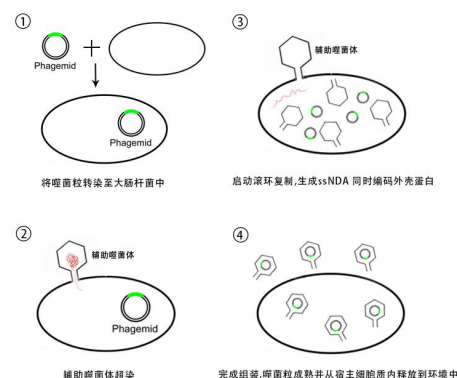
在没有辅助噬菌体超染时，噬菌粒像质粒一样进行扩增；宿主经辅助噬菌体超感染后，在辅助噬菌体的作用下，噬菌粒 IG 区的正链复制起始位点产生 ssDNA，随后噬菌粒的 ssDNA 与 pⅠ、pⅣ、pⅤ和宿主细胞的硫氧还原蛋白完成复杂的组装过程，含有噬菌粒基因组的噬菌体成熟。成熟的噬菌体由细胞质释放到外部环境中。至此噬菌粒的生命周期完成。

辅助噬菌体

辅助噬菌体是一种自身 DNA 复制效率极低的丝状噬菌体突变型。其基因组具有 M13 噬菌体的所有功能基因，但 IG 区是缺陷的，不能被 pⅡ蛋白识别，因而辅助噬菌体本身 DNA 不能进行单链复制。辅助噬菌体能为噬菌粒提供 pⅡ蛋白和包装蛋白，在辅助噬菌体的帮助下，噬菌粒可以顺利的进行 DNA 的复制与噬菌体的包装，完成对宿主的侵染（这一过程通常称为超染）。常用的辅助噬菌体有 VCSM13 和 M13K07 等。

辅助噬菌体的工作原理为：当含有重组基因的噬菌粒转染至大肠杆菌后，再用辅助噬菌体进行超染，辅助噬菌体合成的 pⅡ蛋白就会优先识别噬菌粒上的正常基因间隔区 (IG region)，启动滚环复制，产生 ssDNA，这样所产生的子代噬菌体外壳蛋白所包装的 ssDNA 主要是来自含有重组基因组的噬菌粒的 DNA，并同时展示噬菌粒编码的 pⅢ或 pⅧ与外源肽段的融合蛋白和辅助噬菌体编码

的野生型 pⅢ或 pⅧ蛋白，确保重组噬菌体能正常感染组装和增值。



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



小鼠



兔



羊驼



人源化小鼠



猪



犬

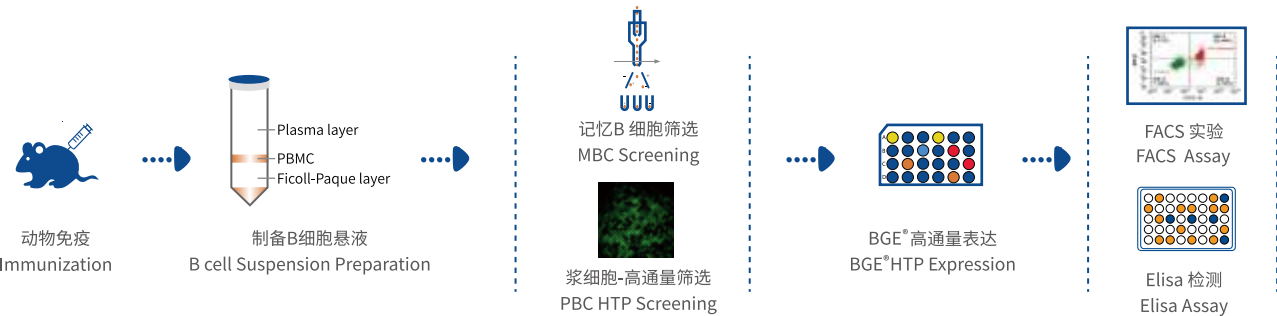


绵羊



人

服务流程





Recombinant Antibody Expression Service

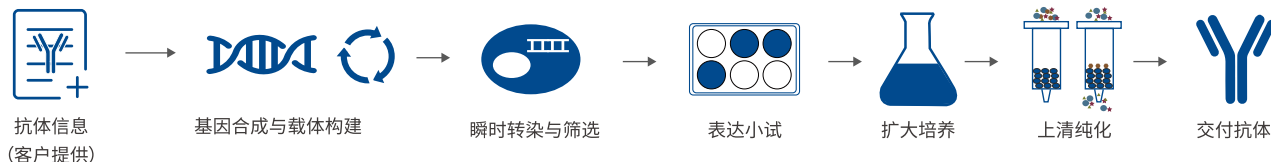
重组抗体表达

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

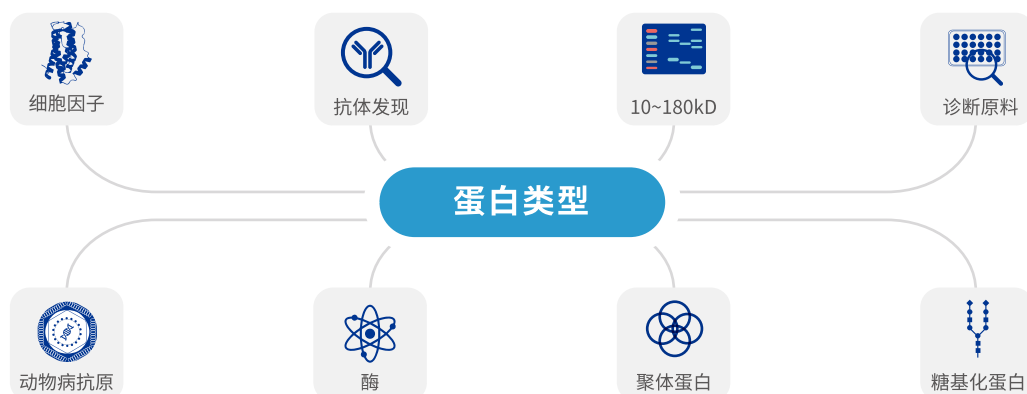


Recombinant Protein Expression Service

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。

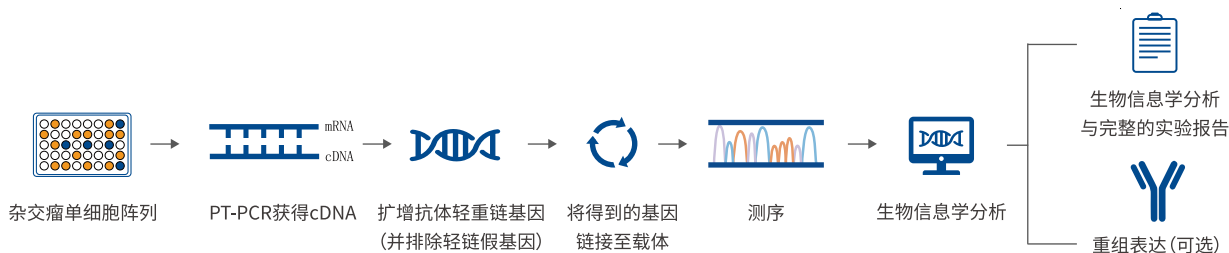
应用场景

- 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κ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

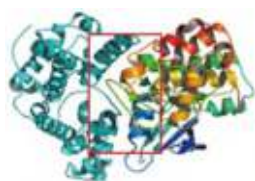


5 Biomolecular Interaction Analysis Service

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



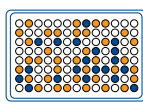
基因合成&质粒抽提



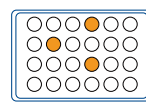
稳定转染



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