

配对抗体的制备与筛选

配对抗体指的是可以同时结合在一个抗原分子上的两个抗体。配对抗体，一般应用于双抗夹心法 ELISA 实验。

抗体配对的原理

通常情况下，一个抗原分子拥有多个抗原决定簇，将抗原注射入动物体内进行免疫，针对不同的抗原决定簇会产生不同的抗体。产生的抗体具有特异性与专一性，即一个抗体分子只会特异性地结合一个抗原决定簇。两个针对不同抗原决定簇的抗体，有可能同时结合到抗原分子上。如果两个抗体同时结合到同一个抗原分子上，那么这两个抗体就是配对抗体。

配对抗体的制备与筛选

需要注意的是，即使两个抗体针对的是不同的抗原决定簇，也并不意味着这两个抗体分子一定可以同时与抗原分子结合。当一个抗体与抗原结合后，有可能会导导致其他结合位点（抗原决定簇）构型的改变，从而导致其他的抗体无法正常结合到抗原上。位阻效应的存在，也可能使两个结合位点距离较近的抗体无法同时结合在抗原上。因此想要得到可以同时结合在抗原分子上的配对抗体，在制备出抗体后，还需要对得到的抗体进行筛选。这就意味着，要制备配对抗体，要完成以下两步工作：抗体的制备；配对抗体的筛选。

抗体制备

为了便于后续的筛选，制备的抗体应为单克隆抗体，通常利用杂交瘤技术进行单克隆抗体的制备（详细操作流程请见：杂交瘤制备单克隆抗体实验流程）。

注意：如果单克隆抗体很少，很可能会找不到可以配对的抗体，因此，在免疫动物的时候，应多免疫几只动物，以获得更多的单克隆抗体（德泰生物为您提供 > 10 只以上小鼠的免疫，筛选配对抗体）。

配对抗体的筛选

通常，配对抗体筛选的方法是双抗夹心 ELISA 法。筛选的原理为：在得到了单克隆抗体后，从中取出两种单克隆抗体，一种作为捕获抗体，另一种作为标记抗体（HRP 酶标记），将捕获抗体包被在抗原板上，先加入抗原，孵育后洗去未结合的抗原，再加入标记抗体 孵育后洗去未结合的标记抗体，最后加入显色液显色。如果可以显色，说明标记抗体与抗原特异性结合，该捕获抗体与标记抗体为一对配对抗体。如果不能显色，说明标记抗体不能与抗原结合，从而被洗脱，该捕获抗体与标记抗体不是配对抗体。如果选择的两种单克隆抗体不能进行配对，则需重新选择两种单抗，重新进行试验，直至找出可以配对的抗体。

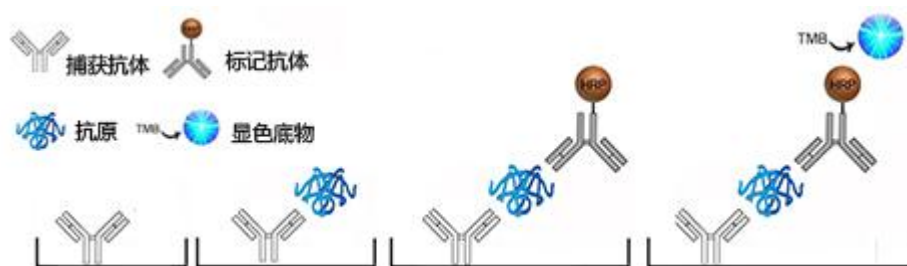


图 1：双抗夹心法 ELISA 筛选配对抗体原理

配对抗体的应用

利用双抗夹心法对目的抗原进行定性定量的检测，必须要用到可以同时与目的抗原结合的配对抗体。对于比较常见的目的抗原，可以通过购买试剂盒的方式得到相应配对抗体。但是市面上试剂盒的种类有限，有些目的蛋白在市场上无法买到对应的试剂盒，为了进行双抗夹心法 ELISA 实验，需进行相应的配对抗体的生产。

相关服务

[抗体配对服务](#)：准备的配对用的抗体 ≥ 10 株，双抗夹心 ELISA 实验，OD 值 \geq 阳性对照。

更多阅读

[抗体亚型鉴定](#)

[抗体标记技术](#)

更多优质服务推荐

1

SingleB® mAb Discovery Service

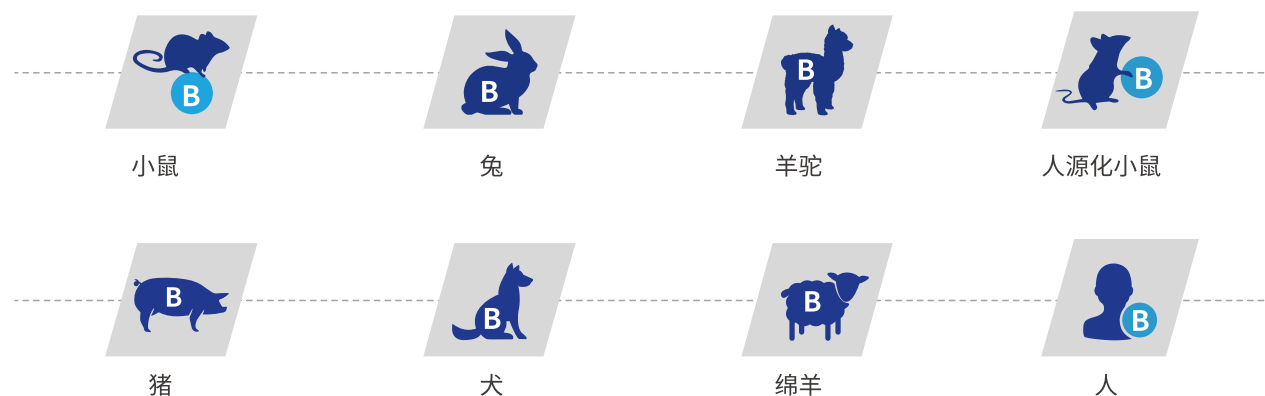
SingleB®单B细胞快速单抗发现

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。

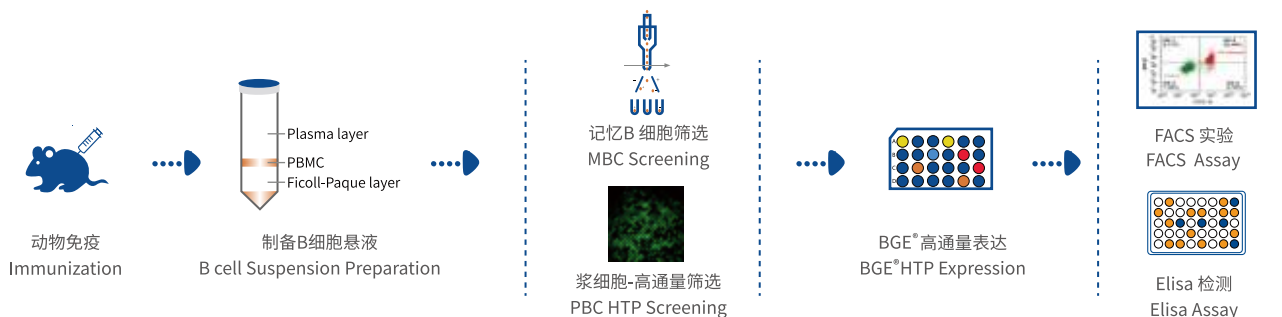
平台优势

- 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

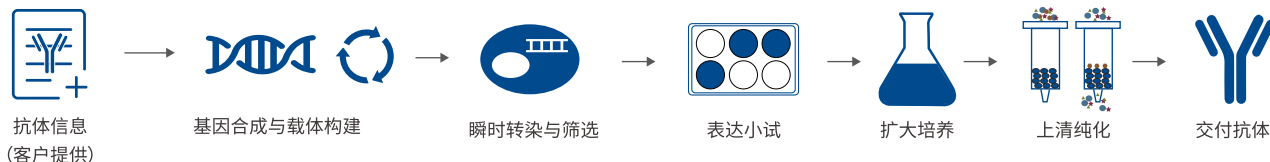
重组抗体表达

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、(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

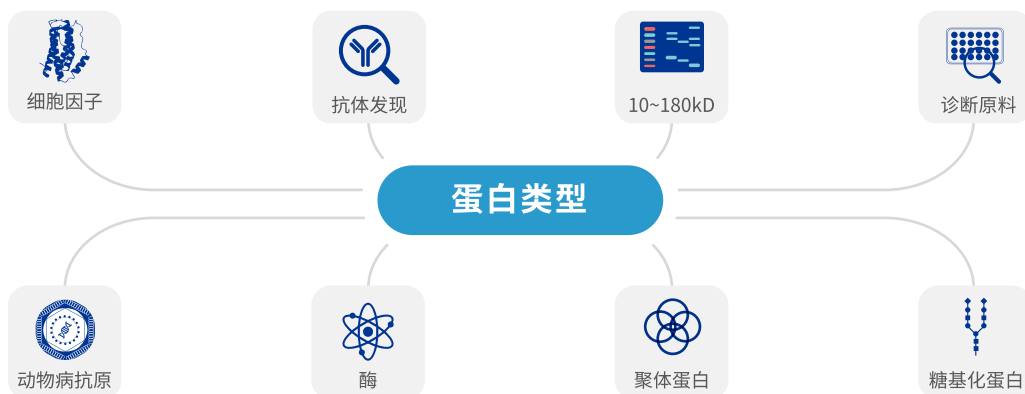


Recombinant Protein Expression Service

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。

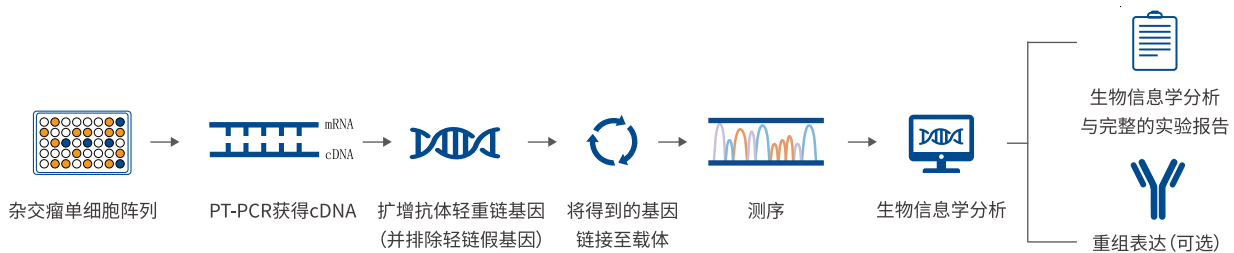
应用场景

- 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



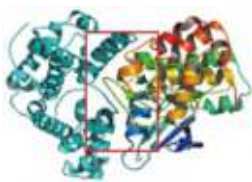
5

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。

6

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

7

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



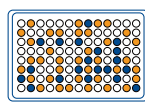
基因合成&质粒抽提



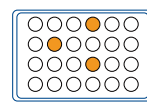
稳定转染



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