

噬菌体展示文库的构建与筛选

噬菌体展示技术是一种用于识别蛋白质和其他大分子配体的体外筛选技术。由 Smith 于 1985 年建立。其原理是将外源多肽或蛋白质的 DNA 序列插入到噬菌体外壳蛋白的一个结构基因的适当位置上，在阅读框正常且不影响外壳蛋白正常功能的情况下，使外源基因随着外壳蛋白的表达而表达，最终多肽或蛋白以与外壳蛋白融合的形式展示在噬菌体表面。被展示蛋白或者多肽可以保持相对的空间结构和生物活性，可以利用靶蛋白对其进行筛选。

高亲和力抗体筛选

噬菌体抗体库构建

利用噬菌体展示技术进行高亲和力抗体的筛选，需要先构建噬菌体展示文库，然后再对噬菌体文库进行筛选。将外源基因插入噬菌体基因适当位置，随着噬菌体的传代，外源蛋白展现在子代噬菌体的表面。所有展示不同外源基因的噬菌体的集合，即噬菌体展示文库。

用于构建文库的不同序列的核酸片段有人工合成法、cDNA 法、DNase I 随机水解 DNA 等方法获得。用于构建文库的噬菌体展示系统有单链丝状噬菌体展示系统、λ噬菌体展示系统、T4 噬菌体展示系统及 T7 噬菌体展示系统等。利用 cDNA 法获得基因片段并进行噬菌体展示文库构建的操作流程为提取 mRNA；逆转录得到 cDNA；设计合适引物，以 cDNA 为模板，PCR 得到基因序列；将基因克隆至噬菌体载体中；电转感受态细胞，辅助噬菌体超染；收集上清，上清即为噬菌体展示文库。

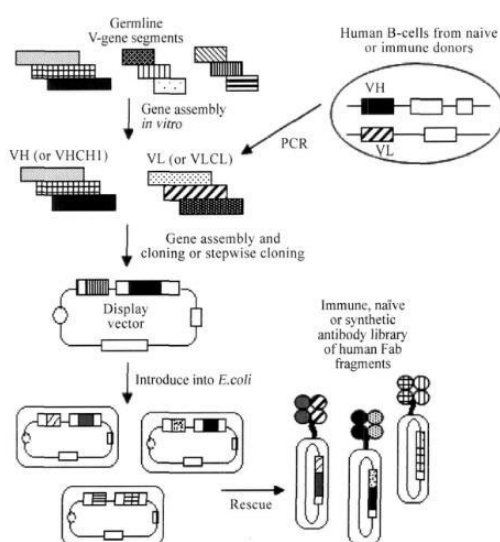


图 1：噬菌体展示文库构建流程

噬菌体抗体库的筛选

筛选的方法主要分为体内筛选和体外筛选两种。体内筛选是指将噬菌体展示文库静脉注射到动物体内，因为血管分子内皮的异质性，噬菌体可以有选择性的导向不同组织，这样就可以得到与不同组织特异结合的噬菌体展示抗体；体外筛选的方法有生物淘洗法、竞争法、消减法、选择性感染筛选、延迟性感染筛选等方法。其中生物淘洗法最为常用。本文主要对生物淘洗法筛选噬菌体抗体库进行说明。

生物淘洗法：以靶蛋白为固定相，以噬菌体展示文库为流动相，经过一段时间的共同孵育后，洗去未结合的游离噬菌体，然后以竞争受体或酸洗脱下与靶分子结合吸附的噬菌体，洗脱的噬菌体感染宿主细胞后经繁殖扩增，进行下一轮洗脱，经过3轮~5轮的“吸附-洗脱-扩增”后，即可得到与靶蛋白具有高亲和性的抗体。

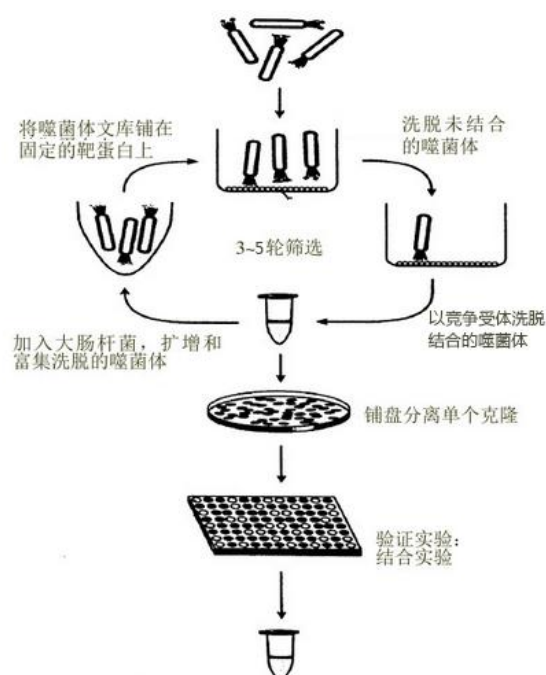


图2：噬菌体展示技术筛选流程

经过筛选后，对筛选得到的蛋白进一步用酶联免疫吸附测定或免疫印迹法对其进行特异性筛选，获取目的克隆或铺盘进行单克隆分离继而进行大规模生产。

相关阅读

[噬菌粒与噬菌粒载体](#)

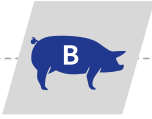
更多优质服务推荐

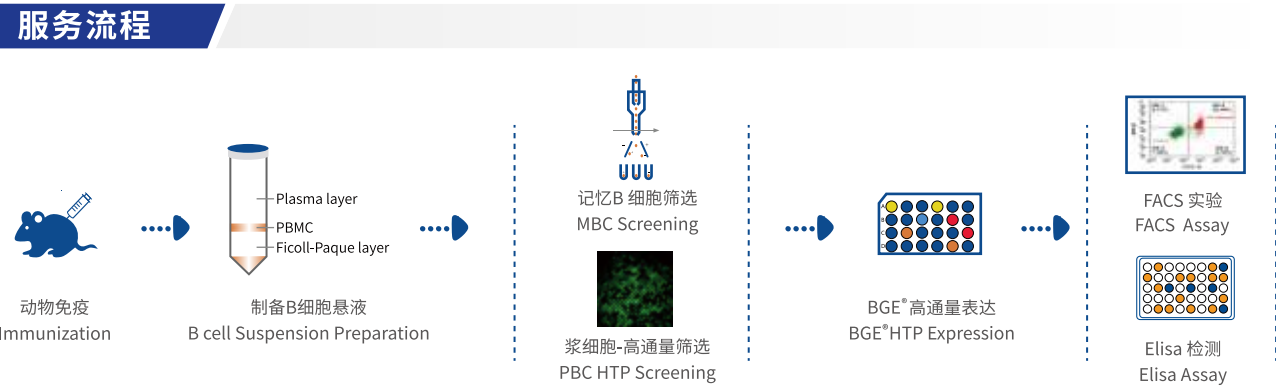
1

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





Recombinant Antibody Expression Service

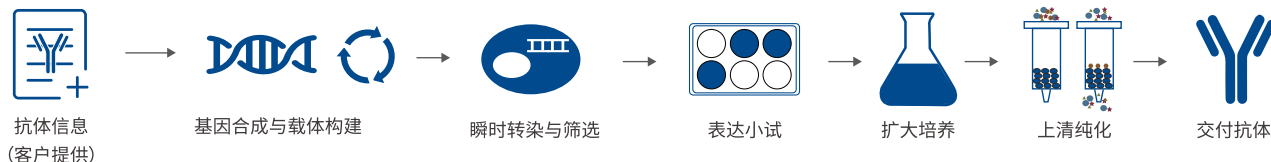
重组抗体表达

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

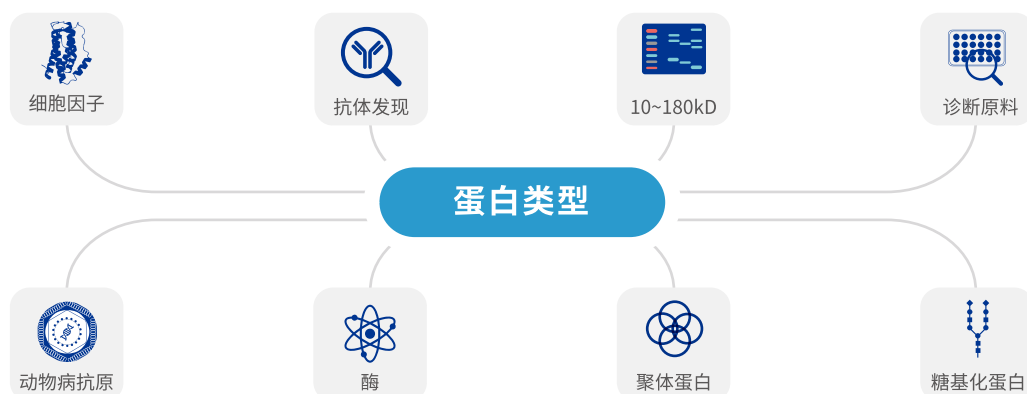


Recombinant Protein Expression Service

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。

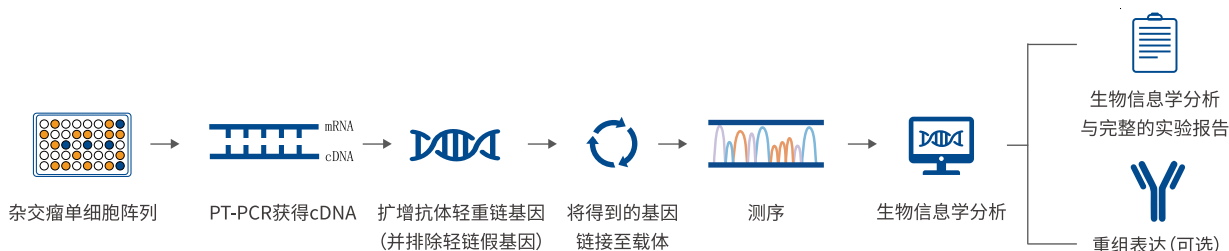
应用场景

- 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



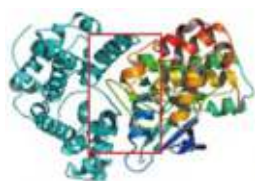
5

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



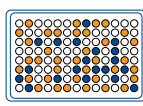
基因合成&质粒抽提



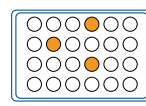
稳定转染



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