

蛋白纯化填料再生实验操作

亲和层析填料的回收与再生 SOP

镍柱的回收:

将使用完的镍柱用对应的含 500mM 咪唑的变性或非变性的洗脱液冲洗至基线。

加入 DDH₂O 冲洗 3—5 个柱体积。

用 20%的乙醇冲洗 3—5 个柱体积。

将其储存在 20%的乙醇中，放置 4℃层析柜中等待再生。

镍柱的再生:

- 取待再生的镍柱，将其倒入砂芯漏斗中（实验室的滤孔是 40μm，大小选择可参考具体的镍柱说明书），滤除 20%的乙醇。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{H}_2\text{O}} = 1:5$ 。
- 加入（50mM Tris, 150mM NaCl, 6M 盐酸胍，0）冲洗柱子， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{盐酸胍}} = 1:4$ 。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{H}_2\text{O}} = 1:5$ 。
- 加入 5%SDS 冲洗柱子， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{SDS}} = 1:2$ 。（若 SDS 析出，用 50%乙醇稀释冲洗直至正常）
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{H}_2\text{O}} = 1:5$ 。
- 加入（20mM Tris, 100mM EDTA, pH8.0）冲洗柱子，直至柱子的颜色由蓝色变成白色， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{EDTA}} = 1:5$ 至 1:10。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{H}_2\text{O}} = 1:5$ 。（取少量柱子与考马斯亮蓝 G250 反应，无颜色变化方可进行下一步操作，若变蓝则继续重复上述步骤，直至无颜色反应）
- 加入 100mM NiSO₄ 于塑料容器中， $V_{\text{柱子}}:V_{\text{NiSO}_4} = 1:3$ 。将其放入 15℃，100r/min 的摇床中孵育结合 10 小时以上（或者过夜），静置后滤除 NiSO₄ 溶液，加入等体积的 20%的乙醇放置 4℃层析柜中待用。

GST 柱的回收:

- 将使用完的 GST 柱用洗脱缓冲液洗至基线。若洗不掉着用 (50mM Tris ,150mMNaCl ,6M 盐酸胍 , 0) 冲洗柱子至基线。
- 加入 DDH₂O 冲洗 3—5 个柱体积。
- 用 20%的乙醇冲洗 3—5 个柱体积。
- 将其储存在 20%的乙醇中 , 放置 4℃层析柜中等待再生。

GST 柱的再生:

- 取待再生的 GST 柱 ,将其倒入砂芯漏斗中(实验室的滤孔是 40uM ,大小选择可参考具体的 GST 柱说明书) , 滤除 20%的乙醇。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子 , V 柱子:VH₂O =1:5。
- 加入 (50mM Tris ,150mMNaCl ,6M 盐酸胍 , 0) 冲洗柱子 , V 柱子:V 盐酸胍=1:4。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子 , V 柱子:VH₂O =1:5。
- 加入 50%乙醇冲洗柱子 , V 柱子:V 乙醇 =1:4。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子 , V 柱子:VH₂O =1:5。(取少量柱子与考马斯亮蓝 G250 反应 , 无颜色变化方可进行下一步操作 , 若变蓝则继续重复上述步骤 , 直至无颜色反应)
- 将其储存在 20%的乙醇中 , 放置 4℃层析柜中待用。

离子交换层析填料的回收与再生 SOP

阴离子/阳离子填料的回收 :

- 将使用完的离子柱用对应 PH 的含 500mMNaCl 的变性或非变性的缓冲液冲洗至基线。
- 加入 DDH₂O 冲洗 3—5 个柱体积。
- 用 20%的乙醇冲洗 3—5 个柱体积。

- 将其储存在 20%的乙醇中，放置 4℃层析柜中等待再生。

阴离子/阳离子填料的再生：

- 取待再生的离子柱，将其倒入砂芯漏斗中（实验室的滤孔是 40uM，大小选择可参考具体的离子柱说明书），滤除 20%的乙醇。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子，V 柱子:VH₂O =1:5。
- 加入 1MNaCl 冲洗柱子，V 柱子:VNaCl =1:5。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子，V 柱子:VH₂O =1:5。
- 加入 5MNaOH 冲洗柱子，V 柱子:VNaOH=1:5。（可根据污染程度调整 NaOH 的浓度，不超过 1M）
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子，V 柱子:VH₂O =1:5。（取少量柱子与考马斯亮蓝 G250 反应，无颜色变化方可进行下一步操作，若变蓝则继续重复上述步骤，直至无颜色反应）
- 将其储存在 20%的乙醇中，放置 4℃层析柜中待用。

分子筛填料的回收与再生 SOP

凝胶柱填料的回收：

- 将使用完的凝胶柱填料用对应的缓冲液以 3ml/min 的流速冲洗至基线稳定。
- 加入 DDH₂O 冲洗 3—5 个柱体积。
- 用 20%的乙醇冲洗 1-2 个柱体积。
- 将其储存在 20%的乙醇中，放置 4℃层析柜中等待再生。

凝胶柱填料的再生：

- 将待再生的柱子，将其倒入砂芯漏斗中（实验室的滤孔是 40uM，大小选择可参考具体的凝胶柱说明书），滤除 20%的乙醇。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子，V 柱子:VH₂O =1:5。

- 加入 5MNaOH 冲洗柱子，V 柱子:VNaOH=1:5。（可根据污染程度调整 NaOH 的浓度，不超过 1M）
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子，V 柱子:VH₂O =1:5。（6）（取少量柱子与考马斯亮蓝 G250 反应，无颜色变化方可进行下一步操作，若变蓝则继续重复上述步骤，直至无颜色反应）
- 将填料装柱，用水压实，并连上蛋白纯化仪器，以恒定流速 3ml/min 通入 DDH₂O 压实，（基线稳定）待用。

疏水层析填料的回收与再生 SOP

疏水层析填料的回收：

- 将使用完的疏水柱用不含对应盐的变性或非变性的缓冲液冲洗至基线。
- 加入 DDH₂O 冲洗 3—5 个柱体积。
- 用 20%的乙醇冲洗 3—5 个柱体积。
- 将其储存在 20%的乙醇中，放置 4℃层析柜中等待再生。

疏水层析填料的再生：

- 将带再生的柱子，将其倒入砂芯漏斗中（实验室的滤孔是 40uM，大小选择可参考具体的疏水柱说明书），滤除 20%的乙醇。
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子，V 柱子:VH₂O =1:5。
- 加入 5MNaOH 冲洗柱子，V 柱子:VNaOH=1:5。（可根据污染程度调整 NaOH 的浓度，不超过 1M）
- 加入 DDH₂O 冲洗柱子，V 柱子:VH₂O =1:5。（4）（取少量柱子与考马斯亮蓝 G250 反应，无颜色变化方可进行下一步操作，若变蓝则继续重复上述步骤，直至无颜色反应）
- 将其储存在 20%的乙醇中，放置 4℃层析柜中待用。

更多优质服务推荐

1

SingleB® mAb Discovery Service

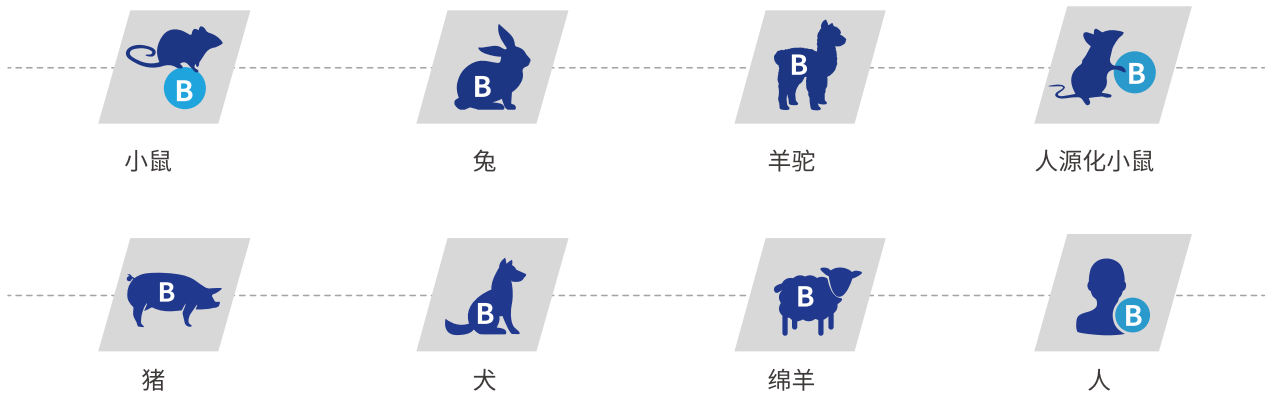
SingleB®单B细胞快速单抗发现

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。

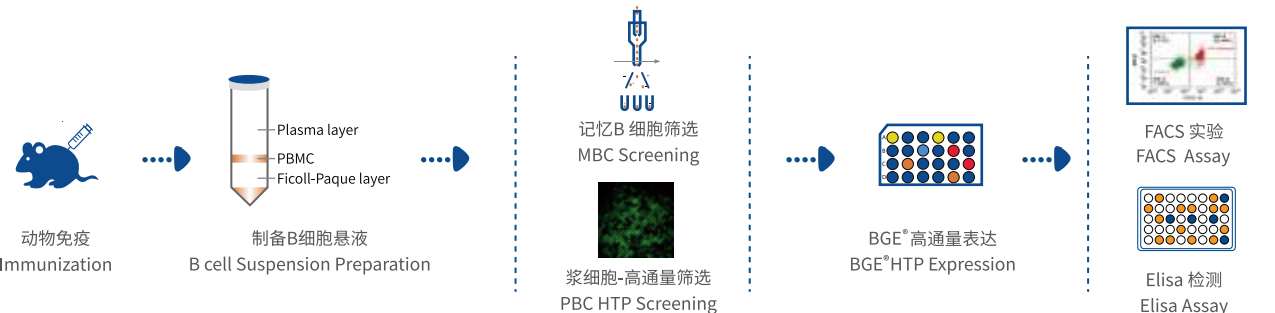
平台优势

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| 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

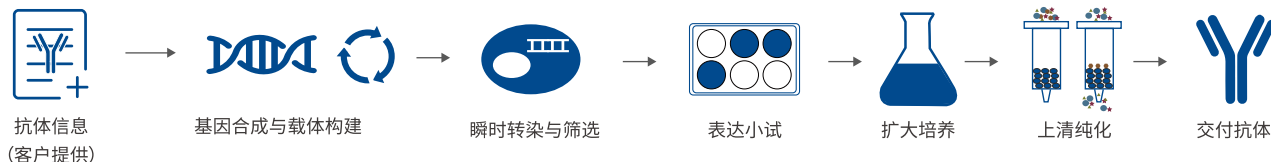
重组抗体表达

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

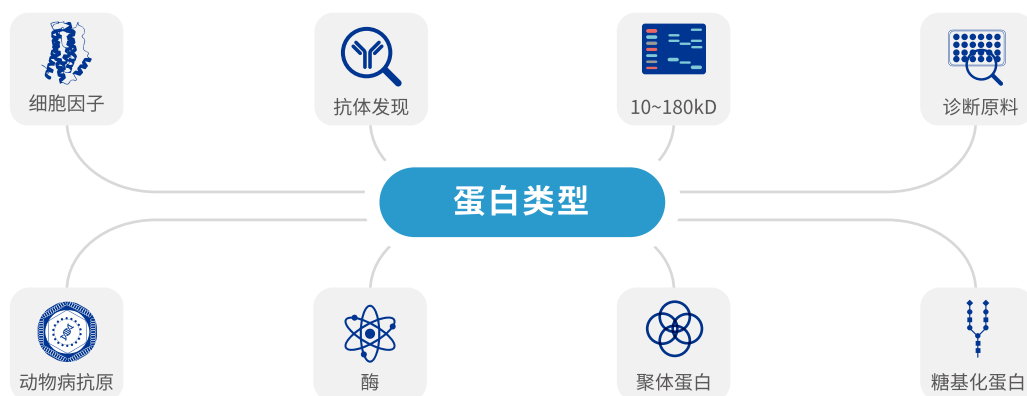


Recombinant Protein Expression Service

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。

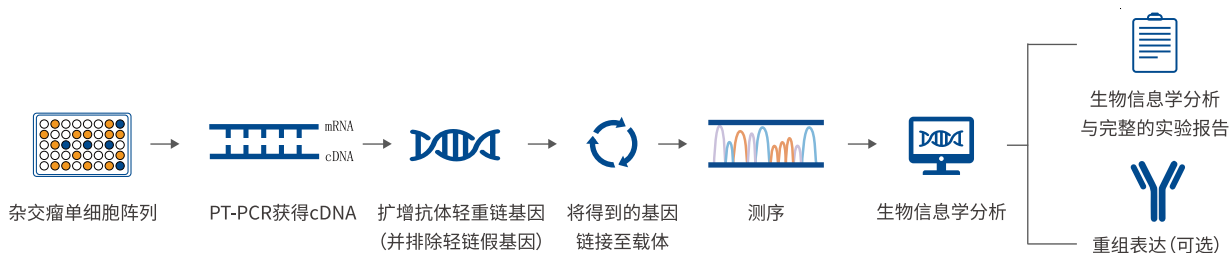
应用场景

- 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

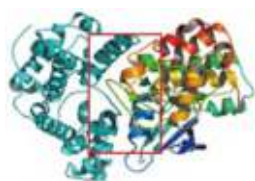


5 Biomolecular Interaction Analysis Service

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



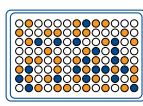
基因合成&质粒抽提



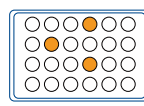
稳定转染



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