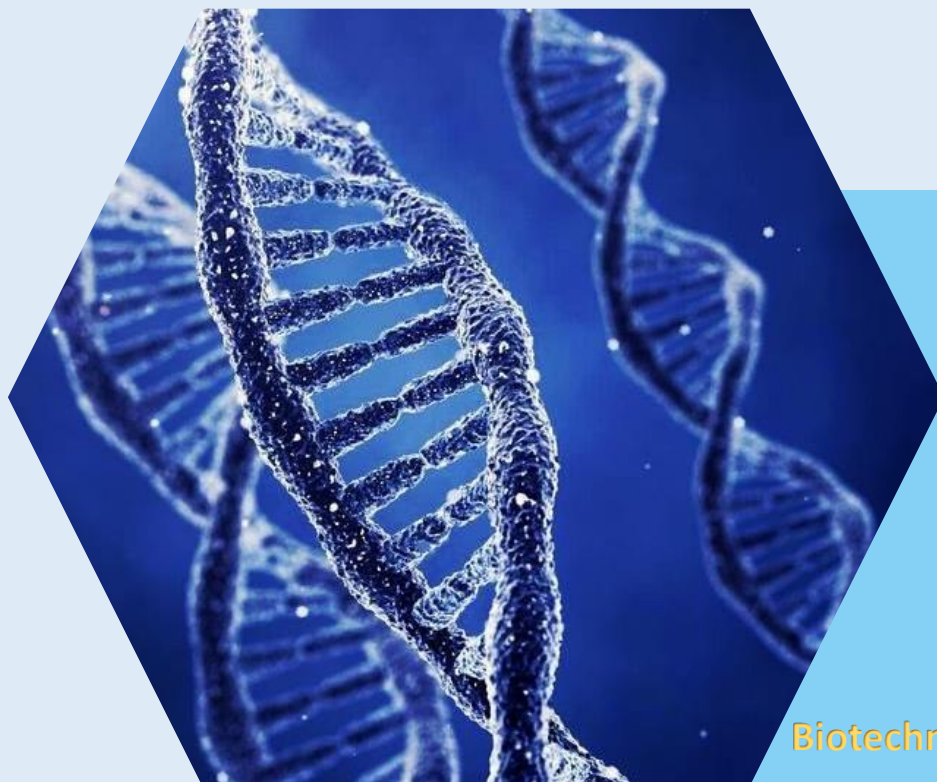




Biotyscience

Biotechnology 2022

百欧泰生物科技

抗体制备、蛋白表达相关服务

抗体研发平台、蛋白表达平台、分子生物学平台

www.biotyscience.com

Tel: 010-5365 2239 E-mail: info@biotyscience.com

公司简介

Company profile

百欧泰为秉承“至臻品质，至善服务”的经营理念，“服务科研”的宗旨，以引进新产品，新技术为己任，为广大科研工作者提供了坚强有力的支撑，也赢得了广大生命科学和生物技术企业客户的肯定、支持和信赖。

我们的优势

- ✦ 具有基础的各类抗原、抗体大规模生产平台；
- ✦ 具备抗体制备、纯化等专业知识体系；
- ✦ 建有完善的抗原、抗体以及免疫诊断试剂产品系列；
- ✦ 具有专业的研发团队和技术服务团队；
- ✦ 具有成熟的技术体系和质量管理体系。

产品订购方式

1. 官网/丁香通订购：QQ 499854788 82458988

2. 关注微信公众号，微信订购

3. 电话/邮箱订购：010-5365 2239 info@biotyscience.com

如果您有任何问题欢迎致电，我们随时为您服务！



Tel: 010-5365 2239 E-mail: info@biotyscience.com

目 录

单克隆抗体制备服务.....	1
(一) 鼠单克隆抗体制备.....	1
1. 服务内容.....	1
2. 实验流程.....	1
3. 样品要求.....	2
4. 服务流程.....	2
(二) 兔单克隆抗体制备.....	2
1. 服务内容.....	2
2. 实验流程.....	2
3. 样品要求.....	3
4. 服务流程.....	3
多克隆抗体制备服务.....	4
1. 服务简介.....	4
2. 服务内容.....	4
3. 实验流程.....	4
4. 样品要求.....	8
5. 服务流程.....	8
磷酸化抗体制备服务.....	9
1. 服务简介.....	9
2. 服务内容.....	9
(一) 磷酸化单克隆抗体制备服务.....	10
1. 服务内容.....	10
2. 实验流程.....	10
(二) 磷酸化多克隆抗体制备服务.....	11
1. 服务内容.....	11
2. 实验流程.....	11
抗体标记服务.....	12
1. 服务简介.....	12
2. 服务内容.....	12
3. 标记物分类及应用.....	12
蛋白表达系统.....	14
(一) 原核蛋白表达系统.....	14
1. 服务简介.....	14

2. 服务内容.....	14
3. 实验原理.....	14
4. 实验流程.....	15
(二) 酵母表达系统.....	16
1. 服务简介.....	16
2. 服务内容.....	16
3. 实验原理.....	16
4. 实验流程.....	17
(三) 杆状病毒-昆虫蛋白表达系统.....	18
1. 服务简介.....	18
2. 服务内容.....	18
3. 实验原理.....	18
4. 实验流程.....	18
(四) 哺乳动物细胞蛋白表达系统.....	20
1. 服务简介.....	20
2. 服务内容.....	20
3. 实验原理.....	20
4. 实验流程.....	20
小分子抗原的制备及偶联服务.....	22
1. 服务简介.....	22
2. 服务内容.....	22
3. 偶联方法.....	22
蛋白标记服务.....	24
1. 服务简介.....	24
2. 服务内容.....	24
3. 标记类型.....	24
ELISA 试剂盒开发技术服务.....	27
1. 服务简介.....	27
2. 服务流程.....	27
3. 试剂盒使用注意事项.....	27

单克隆抗体制备服务

服务简介

单克隆抗体指由单一的浆细胞克隆所产生的高度均一、仅针对某一抗原表位的抗体。当机体受到抗原刺激后，B 淋巴细胞被抗原决定簇激活，增殖分化出大量的浆细胞，而后由浆细胞分泌出特异性抗体。本公司提供的单克隆抗体制备服务包括鼠单克隆抗体制备和兔单克隆抗体制备。本服务项目需要根据客户的要求选择免疫动物，并进行实验。

(一) 鼠单克隆抗体制备

1. 服务内容

本服务项目是按照客户要求免疫 6-8 周龄雌性 Balb/c 小鼠，提取 B 细胞与 SP2/0 骨髓瘤细胞融合，制备特异性的鼠单克隆抗体。

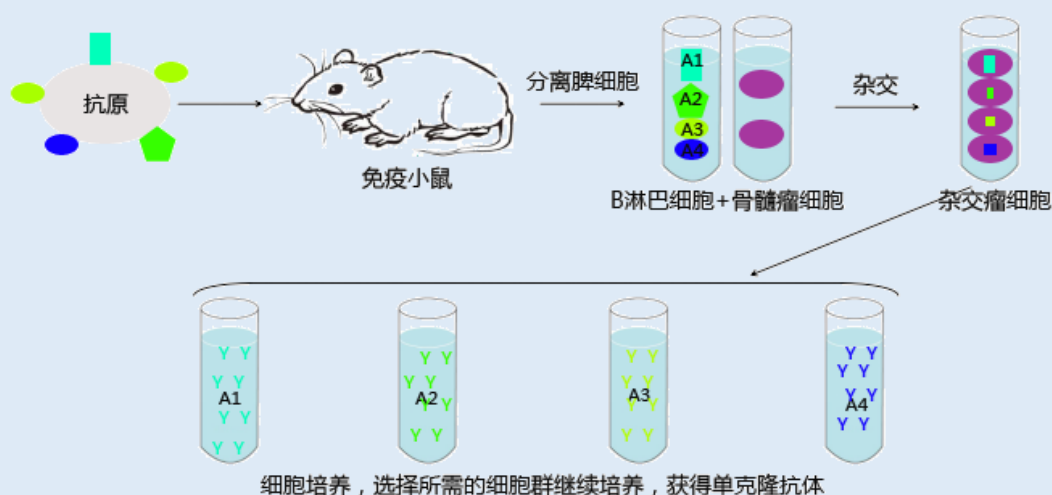
【常规科研抗体定制】

- + 应用于 WB/IHC/IF/IP 的抗体制备服务；
- + 保证型抗体制备服务；
- + ELISA 配对抗体制备服务；
- + 中和功能抗体制备服务。

【IVD 抗体定制】

- + 病理诊断类抗体定制；
- + 免疫诊断类抗体对定制；
- + 点突变类抗体定制。

2. 实验流程



3. 样品要求

- 客户提供制备抗体所需蛋白或多肽片段，抗原纯度 > 85%，数量 > 10mg，浓度 > 1mg/ml。若抗原为小分子多肽和化合物等半抗原，在免疫前需偶联载体蛋白，载体类型包括 BSA, KLH, HRP, OVA。
- 客户提供的抗原信息应包含蛋白抗原的英文全称、种属信息、GeneID 核酸序列或氨基酸序列信息；化合物抗原应提供化学结构式、活性基团、溶解性等信息。
- 请提前说明样品来源、生物危害以及其他特殊情况。

4. 服务流程

客户提交单克隆抗体制备需求，并明确制备要求 — 双方沟通一致后确定实验方案，确定服务要求 — 签订合同 — 预付款 — 开始实验 — 成果交付

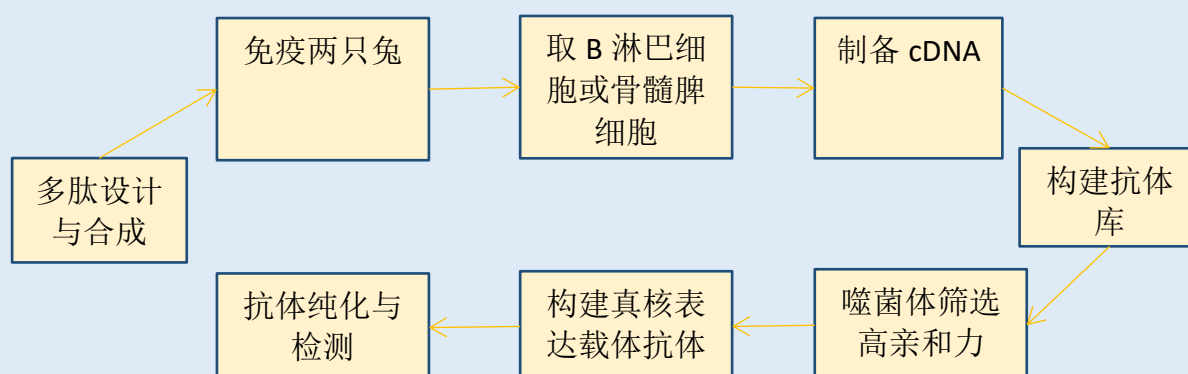
(二) 兔单克隆抗体制备

与鼠单克隆抗体相比，兔单克隆抗体具有亲和力高、识别的抗原表位更加丰富，能够识别在小鼠体内没有免疫原性抗原的突出优点。

1. 服务内容

本服务项目是按照客户要求免疫家兔，提取 B 细胞，构建噬菌体展示兔免疫单链抗体库，筛选高亲和力的兔单链抗体。

2. 实验流程



3. 样品要求

- 客户提供制备抗体所需蛋白或多肽片段，抗原纯度 > 85%，数量 > 10mg，浓度 > 1mg/ml。
- 客户提供的抗原信息应包含蛋白抗原的英文全称、种属信息、GeneID 核酸序列或氨基酸序列信息；化合物抗原应提供化学结构式、活性基团、溶解性等信息。

4. 服务流程

客户提交单克隆抗体制备需求，并明确制备要求 — 双方沟通一致后确定实验方案，确定服务要求 — 签订合同

— 预付款 — 开始实验 — 成果交付

多克隆抗体制备服务

1. 服务简介

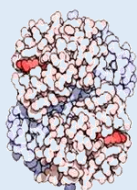
多克隆抗体是由多个 B 淋巴细胞克隆所产生的,受到多种抗原决定簇刺激并可与多种抗原表位结合的抗体。本公司提供的多克隆抗体制备服务可以选择的免疫动物包括小鼠、兔、大鼠、鸡、羊等。本服务项目需要根据客户的要求选择免疫动物, 并进行实验。

2. 服务内容

本公司提供一站式定制化服务, 包括抗原设计, 多肽合成, 动物免疫、抗体纯化和 QC 检测 (ELISA 实验等), 制备的多克隆抗体能够用于 ELISA 、Western Blot、IHC、IF、IP 等多种应用。

3. 实验流程

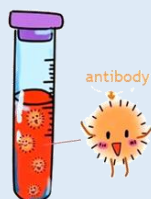
准备抗原



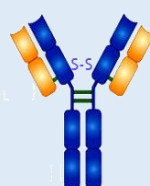
免疫动物



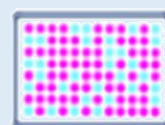
抗血清提取



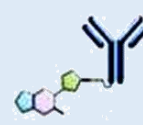
抗体纯化



抗体检测



抗体修饰



(1) 小鼠多克隆抗体制备服务

本公司提供 5 只 6-8 周龄雌性 Balb/c 小鼠, 具体的实验流程如下表所示。

实验流程	天数	实验操作
免疫前采血	0	每只小鼠采血 0.2-0.5 mL
动物免疫	第 1 天	0.10 mg 含弗氏完全佐剂的抗原, 免疫 4 个位点
第二次免疫	第 21 天	50 µg 含弗氏不完全佐剂的抗原, 免疫 4 个位点
第三次免疫	第 42 天	50 µg 含弗氏不完全佐剂的抗原, 免疫 4 个位点
血清效价检测	第 50 天	每只小鼠采血 0.2-0.5 mL
ELISA 检测	第 60 天	进行免疫前的效价检测
第四次免疫	第 62 天	50 µg 含弗氏不完全佐剂的抗原, 免疫 4 个位点, 同时确定实验是否

		继续
实验结束	第 80 天	末次采血，每只小鼠采血 0.5-1 mL

(2) 兔多克隆抗体制备服务

本公司提供三种兔多克隆抗体制备方案，其中 70 天的方案较受欢迎，可以在尽可能短的时间内获得抗血清，本服务项目按照客户需求进行选择。

70 天实验流程			90 天实验流程			120 天实验流程		
步骤	天数	实验操作	步骤	天数	实验操作	步骤	天数	实验操作
免疫前采血	0	每只兔子采血 5 mL	免疫前采血	0	每只兔子采血 5 mL	免疫前采血	0	每只兔子采血 5 mL
动物免疫	1	0.50 mg 含弗氏完全佐剂的抗原，免疫 10 个位点	动物免疫	1	0.25 mg 含弗氏完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点	动物免疫	1	0.25 mg 含弗氏完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
第二次免疫	14	0.25 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点	第二次免疫	14	0.10 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点	第二次免疫	14	0.10 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
第三次免疫	28	0.25 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点	收集血清	28	每只兔子采血 25 mL	第三次免疫	28	0.10 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
收集血清	35	每只兔子采血 25 mL	第三次免疫	42	0.10 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点	收集血清	42	每只兔子采血 25 mL
第四次免疫	42	0.25 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点	收集血清	56	每只兔子采血 25 mL	第四次免疫	56	0.10 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
收集血清	56, 58	每只兔子两次一共采血 50 mL	第四次免疫	56	0.10 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点	收集血清 Elisa 检测效价	70	25 mL per rabbit
Elisa 检测效价	60	Elisa 检测效价，确定实验是否继续	血清收集	70, 72	每只兔子两次一共采血 50 mL	第五次免疫	84	0.10 mg 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点

			Elisa 检测效价	77	Elisa 检测效价， 确定实验是否继续	收集血清 Elisa 检测效价	98, 100	每只兔子两次一共采血 50 mL
						Elisa 检测效价	106	Elisa 检测效价， 确定实验是否继续

(3) 大鼠多克隆抗体制备服务

实验流程	天数	实验操作
免疫前采血	第 0 天	每只大鼠免疫前采血 1 mL
动物免疫	第 1 天	100 μ g 含弗氏完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
一次加强免疫	第 21 天	50 μ g 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
二次加强免疫	第 42 天	50 μ g 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
检测血清	第 50 天	每只大鼠采血 1 mL
ELISA 实验	第 60 天	ELISA 检测效价
三次加强免疫	第 62 天	50 μ g 含弗氏不完全佐剂的抗原，免疫 4 个位点
实验结束	第 80 天	末次采血，每只大鼠采血 2-4 mL

(4) 鸡多克隆抗体制备服务

鸡多克隆抗体制备是对鸡进行免疫，激活其 B 淋巴细胞，并在其分泌的抗体转移到卵黄后，通过每月其产的鸡蛋进行纯化获取纯化的抗体。当使用哺乳动物抗原时，尤其是那些高度保守的抗原，鸡是制备多克隆抗体的良好宿主。鸡免疫球蛋白 Y 是在血清和蛋黄中均存在的主要多克隆蛋白。与哺乳动物的 IgG 抗体相比，鸡的 IgY 抗体具有较强的耐热、耐酸、抗离子强度、一定的抗酶解能力、较高的亲和性、可忽略的交叉反应性和较高的特异性。因此，鸡免疫球蛋白被常常应用于诊断分析。

【实验步骤】

①准备抗原

普通的大分子蛋白，经分子克隆构建载体并在大肠杆菌中进行诱导表达获得重组蛋白，纯化鉴定后可直接作为免疫抗原。

小分子多肽和化合物等半抗原，在免疫前需偶联载体蛋白（载体类型包括 BSA, KLH, HRP, OVA），改造后才能使其成为具有免疫原性的抗原。

②免疫动物准备

选择免疫动物时应考虑抗原和免疫动物的种属差异，种系相近会影响免疫效果，常用佐剂为弗氏完全佐剂和不完全佐剂。客户可以根据需求选择其他佐剂。

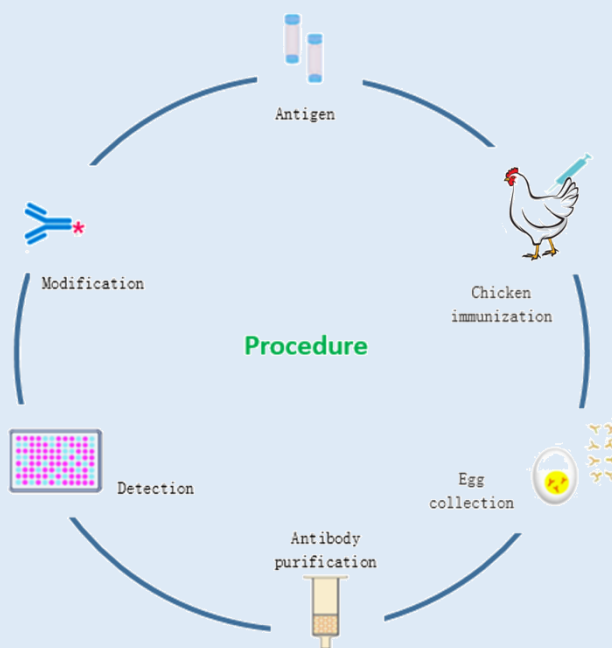
③免疫鸡

初次免疫后要经过 2~3 次以上的加强免疫以形成较高水平的 IgG 抗体。初次免疫和再次免疫之间，鸡一般间隔 10~14 天。在每次加强免疫后，进行抗血清效价测定。当效价达到理想状态时，采集免疫鸡蛋。

④收集免疫鸡蛋

⑤抗体纯化与鉴定

抗体需要进一步的纯化，利用偶联了抗原的亲柱进行层析，具有高效，特异性强，纯度高的特定。根据客户要求可以进一步鉴定纯化蛋白的含量、相对分子的质量、纯度以及特异性。



(5) 羊多克隆抗体制备服务

本服务项目提供两只羊，具体的实验步骤如下表所示。

步骤	服务内容	周期
1. 羊免疫	1. 免疫 1 头羊，共进行 3 次免疫； 2. 首先采集 1mL 免疫前的羊血清，作为阴性对照； 3. 采集免疫后的多抗血清，分别进行 ELISA 效价检测试验； 4. 提供 ELISA 检测报告和 1mL 免疫前羊血清。	6 周
2. 长期采血	1. 使用 0.5mg 抗原免疫羊只； 2. 2 周后采血 200-300mL； 3. 产品交付并提供相应报告。	2-3 周
3. 一次性采血	牺牲羊，收集全部血液，根据需求提供产品或进一步纯化后交付。	1-2 周
4. 纯化试验	1. 采集羊多抗血清，使用 Protein A 法或抗原亲和纯化的方法纯化抗原（服务费略有差异）； 2. 交付纯化后的多克隆抗体。	1 周

4. 样品要求

- 客户可提供制备抗体所需蛋白或多肽片段，抗原纯度 > 85%，数量 > 5mg，浓度 > 1mg/ml。
- 客户提供的抗原信息应包含蛋白抗原的英文全称、种属信息、GeneID 核酸序列或氨基酸序列信息；化合物抗原应提供化学结构式、活性基团、溶解性等信息。

5. 服务流程

客户提交单克隆抗体制备需求，并明确制备要求 — 双方沟通一致后确定实验方案，确定服务要求 — 签订合同 — 预付款 — 抗体制备 — 成果交付

磷酸化抗体制备服务

1. 服务简介

磷酸化抗体是指免疫抗原经过磷酸化处理后再制备得到的抗体。磷酸化抗体可以识别磷酸化氨基酸位点，检测该蛋白在细胞受到刺激时磷酸化水平增强或减弱，进而反映该蛋白的功能状态的变化；还能用于区分蛋白质磷酸化及非磷酸化的存在形式，因此，常用于磷酸化蛋白的定性、定量分析。非磷酸化抗体主要用于检测组织或细胞中该蛋白表达情况，组织分布或细胞定位，同时可作为测定磷酸化水平变化的内参。

蛋白修饰是调节蛋白质功能的重要方式，蛋白磷酸化是细胞中一种常见的翻译后修饰方式(PTM)，对调节蛋白生物活性水平具有重要作用，可以活化或抑制蛋白质活性，从而调节细胞信号转导通路。在真核生物中，蛋白质磷酸化位点为丝氨酸（Ser）、苏氨酸（Thr）和酪氨酸（Tyr）；在原核生物中磷酸化位点主要为组氨酸。

2. 服务内容

本公司提供提供基于噬菌体展示技术的磷酸化抗体制备服务和基于传统抗体制备技术的磷酸化抗体制备服务。本公司提供的磷酸化抗体制备服务包括多肽的设计与合成、多肽偶联、动物免疫、抗体纯化和 QC 检测等，结果交付的抗体会经过磷酸化多肽与非磷酸化多肽的双重检测，确保特异性识别磷酸化的氨基酸位点。

基于噬菌体展示技术的磷酸化抗体制备	基于传统抗体制备技术的磷酸化抗体制备
- 磷酸化位点的分析 - 磷酸化与非磷酸化多肽抗原设计与合成 - 噬菌体抗体文库构建 - 抗体纯化与配对服务	- 磷酸化位点的分析 - 磷酸化与非磷酸化多肽抗原设计与合成 - 动物免疫与血清效价评价 - 抗体纯化与配对服务
- 高特异性：所制备重组单抗只识别特定磷酸化位点，与非磷酸化抗原无反应； - 抗体高效价：保证型抗体 ELISA 效价可达$\sim 10^5$； - 多种制备规模：5L、15L、80L 发酵罐级别可选	- 抗体高效价：保证抗体 ELISA 效价可达$\sim 10^5$； - 高通量抗体筛选平台：日筛 10000 个克隆。

(一) 磷酸化单克隆抗体制备服务

1. 服务内容

本公司提供的磷酸化单克隆抗体制备服务以小鼠作为免疫动物进行实验，客户可以根据自己的需要选择合适的免疫动物和具体的服务方案。

2. 实验流程

①抗原设计与制备：一条磷酸化多肽一条非磷酸化多肽

②小鼠免疫及血清效价检测

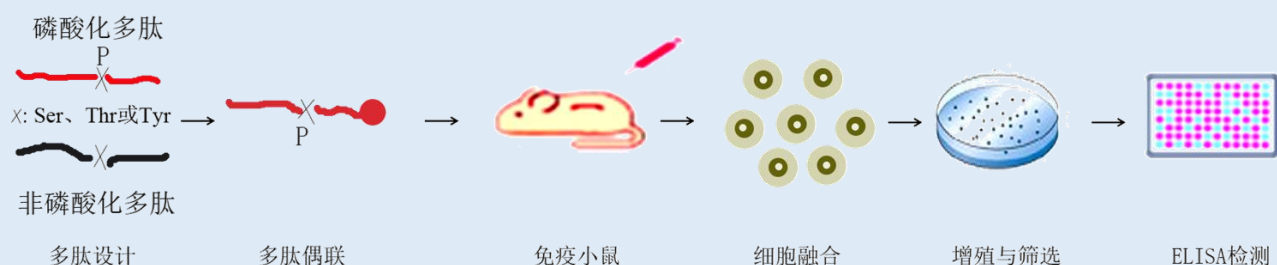
免疫前采血，免疫 5 只 Balb/c 小鼠，ELISA 免疫血清效价检测，末次采血。

③融合与筛选

取脾细胞进行细胞融合（sp2/0 或者 NS0 瘤细胞）融合，筛选单克隆细胞株。

④抗体生产纯化及 QC 分析

适当规模的杂交瘤细胞培养；蛋白 A 纯化抗体；SDS-PAGE 及 UV 分析；ELISA 鉴定。



3. 交付内容

2-5 株 ELISA 阳性克隆，每个克隆 2 管冻存细胞或者 2 瓶活细胞

0.1-0.5mg 纯化抗体/克隆

2mg 磷酸化多肽

2mg 非磷酸化多肽

质量检验报告(CoA)

(二) 磷酸化多克隆抗体制备服务

1. 服务内容

本公司提供的磷酸化多克隆抗体制备服务以兔子作为免疫动物进行实验，客户可以根据自己的需要选择合适的免疫动物和具体的服务方案。

2. 实验流程

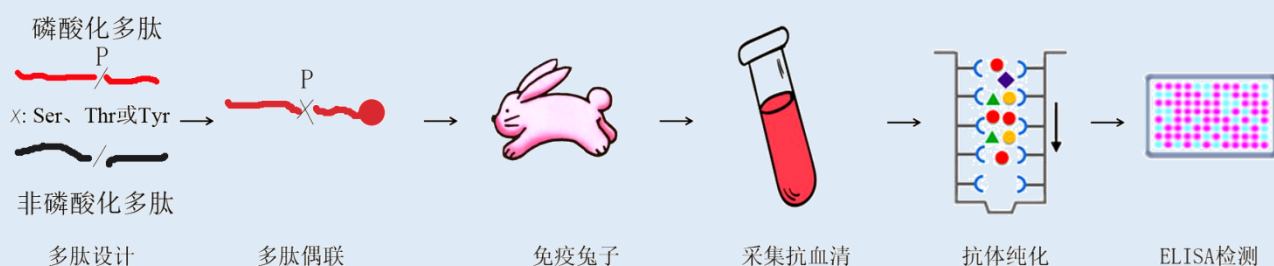
①抗原设计与制备：一条磷酸化多肽一条非磷酸化多肽

②兔子免疫及血清效价检测

免疫前采血，免疫 2 只兔子，ELISA 免疫血清效价检测，末次采血。

③纯化：蛋白 A 亲和纯化/抗原亲和纯化

④QC 鉴定：SDS-PAGE 及 UV 分析；ELISA 鉴定



3. 交付内容

所有纯化获得的磷酸化抗体

1~2mL 免疫前血清

2~4mg 磷酸化多肽

2~4mg 非磷酸化多肽

质量检验报告 (CoA)

抗体标记服务

1. 服务简介

抗体标记 (Antibody labeling) 是指将标记物 (酶、荧光素、生物素等) 共价连接到抗体上, 然后与待测物 (如某些特定抗原) 特异性反应形成多元复合物, 并借助于荧光显微镜、射线测量仪、酶标检测仪、电子显微镜和发光免疫测定仪等精密仪器对试验结果直接镜检观察或进行自动化测定, 可以在细胞、亚细胞、超微结构及分子水平上对抗原、抗体反应进行定性和定位研究或应用各种液相和固相免疫分析方法对体液中的半抗原、抗原进行定性和定量测定。常见的抗体标记技术包括酶标记法、生物素化标记法、荧光素标记法和胶体金标记法等。

荧光色素是常用的标记抗体的标记物之一。荧光素经恰当的激发可发光, 从而得知抗体的定位和待测抗原的分布情况, 主要用于细胞分选或高分辨率免疫染色, 是一种非常好的亚细胞水平精确定位的方法。

酶标记 (HRP) 抗体是将酶与特异性抗体经适当方法连接而成, 其应用领域也很多, 结果即时可见、敏感性高, 但较难应用于定量分析。

生物素标记 (Biotin) 反应简单、温和且很少抑制抗体活性, 将生物素与抗体共价结合是一种非常简便、直接的标记方法。

2. 服务内容

百欧泰生物提供抗体、蛋白、多肽和其他生物分子的标记服务, 可选标记包括酶、生物素、常规荧光素、Cy 系列荧光素、Alexa Fluor 系列荧光素、荧光蛋白、荧光双标记、胶体金标记等。

3. 标记物分类及应用

(1) 常规标记物

酶标记物: AP/ALP, HRP;

生物素 Biotin

常规荧光素: FITC, Rhodamine B; (适用于多重成像、流式细胞术)

Alexa Fluor 系列荧光素: AF350, AF488, AF555, AF594, AF647;

Cy 系列荧光素: Cy3, Cy5, Cy5.5, Cy7; (适用于多重成像、流式细胞术)

荧光蛋白：藻红蛋白（PE），别藻蓝蛋白（APC）；（适用于多重成像、流式细胞术）

荧光双标记：PE-Cy3, PE-Cy5, PE-Cy5.5, PE-Cy7；（适用于多重成像、流式细胞术）

胶体金标记 Co-Au

（2）其他标记物

金纳米颗粒：金纳米颗粒常用于侧向层析检测的开发。本公司可以提供与不同大小的金纳米颗粒偶联的优质、可重复性抗体。

寡核苷酸：寡核苷酸标记抗体可以用于免疫 PCR、邻位连接技术（PLA）、多重组织成像、单细胞多组学分析（如 CITE-Seq）和 10x Genomics 的特性条形码技术。

蛋白表达系统

蛋白表达是指用模式生物如细菌、酵母、动物细胞或者植物细胞表达外源基因蛋白的一种分子生物学技术。蛋白表达系统是指由宿主、外源基因、载体和辅助成分组成的体系。百欧泰提供重组蛋白表达与纯化服务，现有的表达系统包括：E.coli 原核表达系统、酵母表达系统（毕赤酵母）、昆虫细胞表达系统（杆状病毒）、哺乳动物细胞表达系统，可以提供多样化定制服务。

（一）原核蛋白表达系统

1. 服务简介

原核蛋白表达系统是常用的表达系统，以大肠杆菌表达系统为代表，具有遗传背景清楚、成本低、表达量高和表达产物分离纯化相对简单等优点。利用原核蛋白表达体系（如 E.coli 表达系统）进行外源基因表达，可以采取持续型表达（如 T7 启动子）或者诱导型（如 T7/LacO 启动子）等方式。

2. 服务内容

本公司可提供的服务包括以下几类，客户可以提供目的基因序列或建好的表达质粒，本公司提供一站式基因合成和蛋白表达与纯化服务或重组蛋白表达与纯化服务。

①密码子优化：涉及基因合成、载体构建、基因保证转录、mRNA 翻译、翻译后修饰等环节，可以达到蛋白的有效表达。

②载体的构建和亚克隆

拥有多种原核表达载体如 pET-24 (+)、pETBlue、pGEX-6P-1 和多种大肠杆菌表达宿主：如 BL21、Origami DE3、C41 等供选择。

③蛋白纯化：拥有全套预装的离子柱、分子筛、疏水柱及亲和层析柱。

④蛋白折叠、修饰、复性：提供多种蛋白的翻译后修饰和检测和蛋白质复性服务。

⑤内毒素检测和去除：通过 ELISA 法、IML 法、化学发光法等方法可以准确的检测出蛋白中低于 0.1EU/ml 内毒素含量。

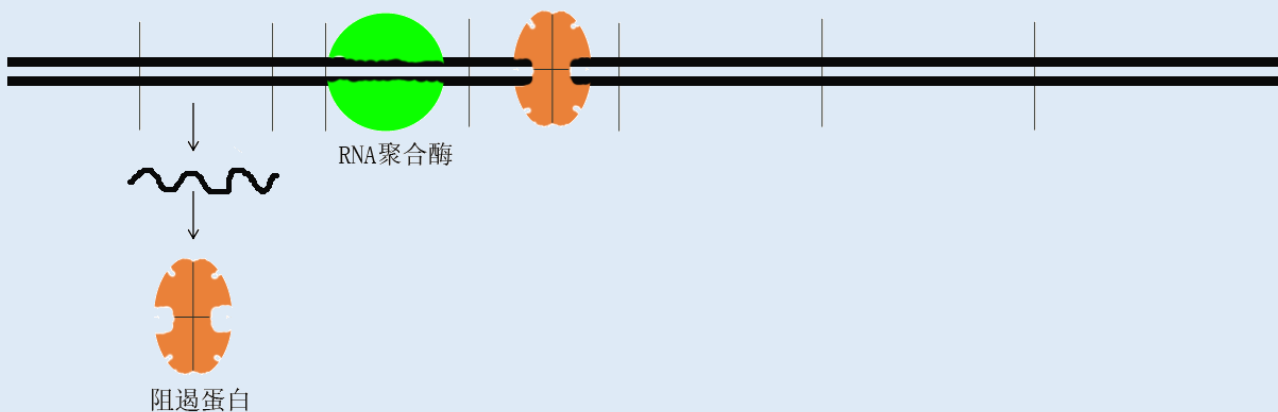
⑥蛋白鉴定：利用定性或者定量分析的方法进行蛋白质鉴定，包括 SDS-PAGE、CD、质谱分析、末端测序等多种鉴定方法。

3. 实验原理

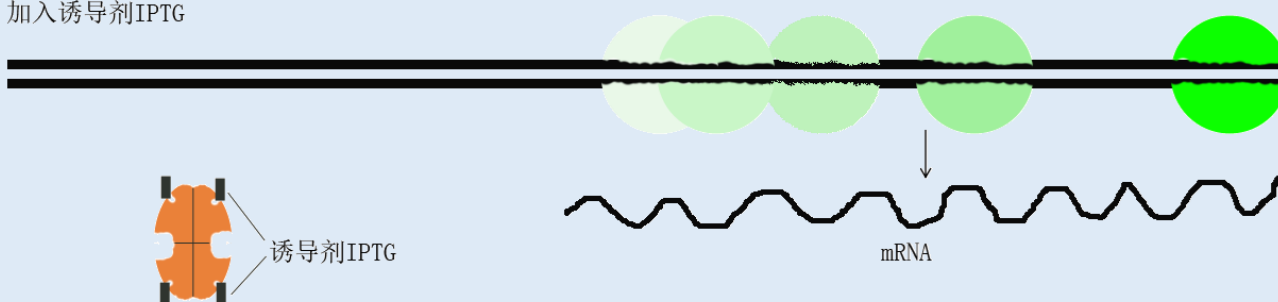
大肠杆菌蛋白表达原理及 IPTG 诱导原理：在原核蛋白表达体系中，外源基因通常需要诱导剂的诱导才能进行表达，以 E.coli（大肠杆菌表达系统）为例，使用诱导剂 IPTG 诱导表达原理如下图所示。

无诱导剂

lac启动子 lacI调节基因 lac启动子 lacO操纵基因 lacZ lacY lacA



加入诱导剂IPTG



4. 实验流程

- 测序验证
- 序列比对
- 重组质粒酶切
- 蛋白表达分析鉴定（11度低温诱导体系）
- 重组蛋白亲和纯化（Ni亲和树脂一步亲和纯化）
- 纯化后蛋白 Sumo蛋白酶酶切
- Sumo蛋白酶酶切后第二次亲和纯化
- 得到酶切后目的蛋白

(二) 酵母表达系统

1. 服务简介

酵母表达系统也是一种外源蛋白表达系统，也是近年来常用的一种表达重组蛋白的手段，它补充了一些原核蛋白表达系统中所缺乏的功能，例如真核表达时能够形成稳定的二硫键，在蛋白经过翻译后可对蛋白进行正确修饰，使表达出来的蛋白更具天然活性而不是被降解或者是形成包涵体；利用真核表达系统可以诱导高效表达，加快了人们对基因研究以及药物研究的进程。

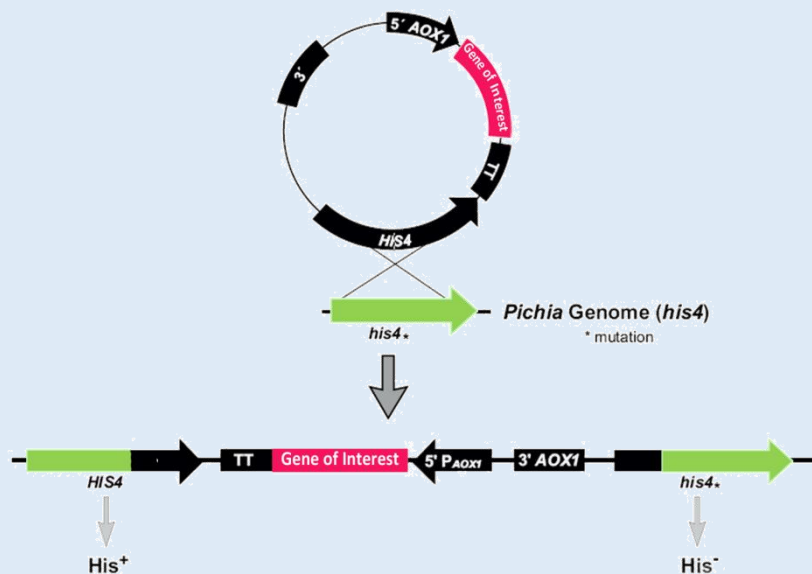
2. 服务内容

百欧泰生物的酵母分泌表达系统采用的宿主是巴氏毕赤酵母(*Pichia pastoris*)，该表达系统是近年来发展迅速、应用较多的一种真核表达系统。百欧泰生物酵母分泌表达系统服务项目包括：

- ①重组酵母表达质粒构建；
- ②重组质粒电转化；
- ③重组表达子筛选；
- ④小规模蛋白表达和纯化（24 培养基培养产物）。

3. 实验原理

甲醇酵母表达系统较为常见，以毕赤酵母属(*Pichia*)应用较多。甲醇酵母的表达载体为整合型质粒，载体中含有与酵母染色体中同源的序列，很容易整合到酵母基因组中，大部分甲醇酵母的表达载体中都有甲醇酵母醇氧化酶基因(AOX1)，在该基因启动子(PAOX1)作用下，外源基因得以表达。甲醇酵母一般先在含甘油的培养基中生长。培养至高浓度后，再以甲醇为碳源，诱导外源蛋白表达。



4. 实验流程

- 将目的基因克隆入毕赤酵母表达载体，收获阳性重组表达质粒；
- 用适当的限制性内切酶消化阳性重组质粒，使之线性化；
- 将线性化的阳性重组质粒转化入巴斯德毕赤酵母菌株（如 GS1 15，KM71）；
- 将转化物接种 HIS4 缺陷平板进行初次筛选；
- 用不同浓度的 G418 平板进行第二轮筛选；
- 挑选 10~20 个克隆进行小规模诱导培养，鉴定外源基因的表达量；
- 挑选高水平表达菌株进行大规模诱导培养以制备外源基因的表达蛋白质。

(三) 杆状病毒-昆虫蛋白表达系统

1. 服务简介

杆状病毒-昆虫细胞系统是一个由两个部分组成的二元系统。一个部分是杆状病毒表达载体，它是一个昆虫病毒，其功能显然就是将编码目标蛋白质的外源基因导入宿主细胞中。杆状病毒表达载体的另一个功能是为在晚期启动子控制下的目标基因的转录提供所需的转录复合物。第二个部分就是宿主，通常是鳞翅类昆虫细胞系，但有时是鳞翅类的昆虫。杆状病毒-昆虫蛋白表达系统凭借其稳定的实验体系、高表达水平及翻译后修饰功能而被认可为一种表达大规模蛋白的强有力的工具,可以提供高活性的重组蛋白，解决在其它体系中无法解决的蛋白活性困难。

2. 服务内容

百欧泰生物科技拥有多样化的蛋白表达平台和丰富的蛋白纯化经验，提供从基因设计、载体构建、蛋白表达纯化到活性检测的研究服务，快速灵活交付高纯度、低成本各类活性重组蛋白，客户可以根据不同的蛋白性质、实验条件、生产成本、表达水平及安全性等需求，选择合适的表达系统，获取目标蛋白。

3. 实验原理

以目的基因序列翻译的蛋白序列为源模板，通过密码子优化一套更适宜 SF9 细胞系的基因序列。根据目的基因序列分析结果，看目的基因是否含有信号肽，若无信号肽，在基因重组时需要在蛋白序列 N 端添加 GP67 信号序列帮助蛋白穿膜分泌表达至胞外，并且在 C 端添加 6XHis-Tag 便于重组蛋白的检测和亲和纯化。整体实验方法就是以基因合成的方式构建 pFast-bac1-target-gene 表达质粒，转化后通过蓝白筛选方法获得重组的 Bacmid，经 PCR 鉴定之后转染 sf9 细胞，以获得 P1 代病毒和 P2 代病毒。侵染 200ml 小试表达，通过 western blot 检测蛋白表达情况，确认蛋白表达情况，再通过 Ni Focurose 6FF(TED)亲和纯化获得 80%以上纯度的目的蛋白。

4. 实验流程

步骤	周期	交付内容
分子克隆和亚克隆	1-2 周	
构建重组杆状病毒表达载体	1 周	
病毒生产：转染及收获病毒	1-2 周	
病毒滴度检测	1 周	评估表达结果
重组蛋白表达纯化	1-2 周	纯化蛋白；实验报告；SDS-PAGE 结果
QC 检测	1-2 周	蛋白浓度检测；活性检测报告（可选）

(四) 哺乳动物细胞蛋白表达系统

1. 服务简介

哺乳动物细胞表达系统在表达过程中有翻译后修饰和折益的功能，这一特点使其蛋白更接近天然蛋白，具备天然蛋白必须的空间结构和修饰，与天然蛋白有相同的生物活性。哺乳动物细胞表达系统在功能蛋白、抗体生产、临床疫苗的研发和生产中应用较多。

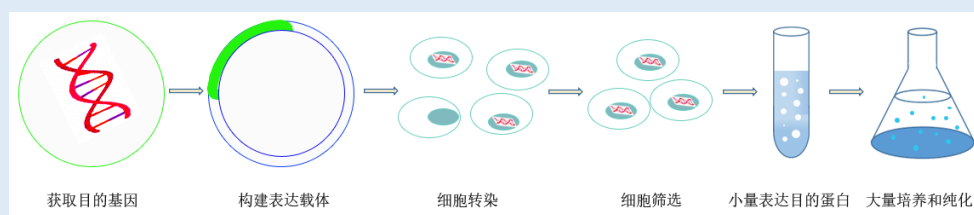
2. 服务内容

本公司可提供多种表达服务，包括瞬时转染表达、重组抗体表达生产、稳定细胞株构建服务。公司提供无血清悬浮培养的多种哺乳细胞表达系统，同时提供商业化转染体系为客户提供多种选择；拥有一套经过反复验证的载体-细胞-转染高效表达体系，可以轻松获得抗体的稳定性克级生产；可提供蛋白及抗体药物研发生产服务。本公司可提供一站式服务，包括基因优化（密码子优化）、蛋白结构分析与表达方案设计、瞬时转染、稳定细胞株构建、重组抗体生产、数据分析。

3. 实验原理

构建的质粒（环状质粒）导入到培养好的细胞内，将构建好的质粒酶切（质粒线性化），线性化后的质粒导入到定向驯化培养好的宿主细胞后，线性化的质粒能够和细胞自身的基因组整合，随着细胞的生长分裂能够稳定的表达，这个过程就叫做稳定转染。因为质粒整合到细胞基因组上是一个相对随机的过程（可以人为干预，促进其成功率），有的质粒未能成功的进行同源重组，有的重组成功也不能稳定遗传，且重组后的状态也有几种，因此，在其重组后进行不断的加压筛选（这就是细胞系构建时间长的原因），筛选出能够稳定表达蛋白的细胞株，这就是稳定细胞株的筛选。经过成功筛选的细胞株，直接培养可以大量的生产目的蛋白，虽然前期耗时较长，但节约了后续大规模培养的时间。（可以先尝试瞬时转染得到少量蛋白，检测后再进行稳定细胞系构建）。

4. 实验流程



小分子抗原的制备及偶联服务

1. 服务简介

很多物质独立存在时只具有反应原性而无免疫原性，这些物质称为半抗原。半抗原与蛋白质载体或高分子聚合物结合后才有免疫原性。小分子化合物抗原是典型的半抗原，如一些分子量小于 4000 的有机物质，例如大多数的多糖、甾族激素、脂肪胺、类脂质、医药中间体、某些小分子量的药物等。

小分子半抗原与载体蛋白偶联效果会受到偶联物的浓度及其相对比例、偶联剂的有效浓度与其相对量、缓冲液成分及其纯度和离子强度、pH 以及半抗原的确定性、可溶性和理化特性等因素的影响。通常是在条件温和的水溶液中将半抗原与载体蛋白共价结合，不宜在高温、低温、强碱、强酸条件下进行。一般是由半抗原上的活性基团决定偶联合成的方法，常见的偶联类型有分子中含有羧基或者可羧化的半抗原的偶联、含有氨基或可还原硝基半抗原的偶联、含羟基半抗原的偶联。

2. 服务内容

本公司为客户提供小分子抗原，同时也提供小分子抗原的偶联及检测服务。蛋白质与半抗原结合基于游离氨基、羧基、酚基、巯基、吡啶基、咪唑基、胍基等活性基团的缩合。客户提供小分子抗原时，请务必提供抗原分子理化性质信息，包括分子式、分子结构图、活性基团等，便于确认实验可行性；由于小分子的抗原性与分子结构、活性基团、连接臂、偶联效率等多种因素有关，公司只对纯度及合成量负责。

3. 偶联方法

(1) 分子中含有羧基或者可羧化的半抗原的偶联

1) 混合酸酐法

混合酸酐法，也称氯甲酸异丁酯法。半抗原上的羧基在正丁胺存在下与氯甲酸异丁酯反应，形成混合酸酐的中间体，在与蛋白质的氨基反应，形成半抗原与蛋白质的结合物。

2) 碳二亚胺法

碳二亚胺（EDC）使羧基和氨基间脱水形成酰胺键，半抗原上的羧基先与 EDC 反应生成一个中间物，然后再与蛋白质上的氨基反应，形成半抗原与蛋白质的结合物。EDC 被称作为零长度交联剂之一，因为它作为酰胺键的

形成介质并没有形成手臂分子。此方法连接十分简便，只需将载体蛋白质和抗原按一定比例混合在适当的溶液中，然后加入水溶性碳化二亚胺，搅拌 1-2h，置室温 24h，再经透析即可。如果半抗原分子中不含羧基，可通过某些化学反应引入羧基。在引入羧基后，也可用上述方法进行偶联。

(2) 含有氨基或可还原硝基半抗原的偶联

1) 戊二醛法

双功能试剂戊二醛的两个醛基分别与半抗原和蛋白质上的氨基形成 schiff 键 ($-N=C<$)，在半抗原和蛋白质间引入一个五碳桥。这一反应条件温和，可在 4-40°C 及 pH6.0-8.0 内进行，操作亦简便。

2) 重氮化法

用于活性基团是芳香胺基的半抗原，芳香胺基与 NaNO_2 和 HCl 反应得到一个重氮盐，它可直接接到蛋白质酪氨酸羧基的邻位上，形成一个偶氮化合物。

(3) 含羟基半抗原的偶联

1) 琥珀酸酐法

半抗原的羟基与琥珀酸酐在无水吡啶中反应得到一个琥珀酸半酯（带有羧基的中间体），再经碳化二亚胺法或混合酸酐法与蛋白质氨基结合，在半抗原与蛋白质载体间插入一个琥珀酰基。

2) 羰基二咪唑法

N, N-羰基二咪唑是引入羰基的高活性试剂，在肽合成中首次表明了是形成很好的酰胺键试剂。含羧基的分子同羰基二咪唑反应，形成中间体咪唑基甲酸酯，它能和 N-亲核试剂反应，得到 N-烷基化的甲酸酯键，通常蛋白质通过 N-端 (α -氨基) 和赖氨酸侧链的 (ϵ -氨基) 和分子形成不带电的类似尿烷的衍生物，具有很好的化学稳定性。

蛋白标记服务

1. 服务简介

为研究蛋白的性质、含量、结构与功能，通常会选择利用一些容易测定又具有高度敏感性的物质作为标记物标记蛋白，然后通过检测这些标记物的增强放大效应而产生的颜色变化、光谱变化等来达到研究目的。利用蛋白质中氨基酸残基的特殊理化性质，在特定的条件下使蛋白与标记物结合，形成蛋白标记物。标记策略决定了靶蛋白或核苷酸序列上共价结合不同的分子，包括生物素、酶、荧光基团和放射性同位素。虽然具有多种类型的标记物可供选择，但是针对特定的应用选择不同的标记物。

2. 服务内容

百欧泰生物拥有经验丰富的技术团队，积累了充足的蛋白标记经验，凭借成熟的标记技术和配套的仪器设备，可为客户提供高品质的蛋白质标记服务。我们为客户提供多种标签和结合物的选择，能够为客户提供个性化解决方案，选择适合的标记物或标记方式，同时帮助客户分析关键变量。

- 标记或结合反应的类型：特异性位点结合 VS 随机耦合；
- 标记或结合的位点：减少空间上的阻力，对蛋白折叠和活性的影响降低；
- 标记或结合的化学计量
- 体内标记
- 免疫原性和连接基团的体外稳定性

3. 标记类型

(1) 蛋白标签

蛋白标签与目的蛋白融合表达，以便于目的蛋白表达、检测、示踪和纯化蛋白或多肽。这些标签抗体可以高特异地结合对应的标签融合多肽或蛋白，分离纯化和分析检测目的蛋白。

SNAP 标签、HA 标签蛋白、MYC 标签蛋白、FLAG、GST、H6。

(2) 同位素标记

蛋白同位素标记是经典的一种蛋白示踪和蛋白组学定量技术，与体外标记技术相比，同位素标记技术属于体内标

记。

同位素标记原理：用天然同位素（轻型）或稳定同位素（重型）标记的必需氨基酸取代细胞培养基中相应氨基酸，细胞经 5-6 个倍增周期后，稳定同位素标记的氨基酸全部掺入到细胞新合成的蛋白质中替代了原有氨基酸。不同标记细胞的裂解蛋白按细胞数或蛋白量等比例混合，经分离、纯化后进行质谱鉴定，根据一级质谱图中两个同位素型肽段的面积比较进行相对定量。

同位素标记蛋白的流程

- + 克隆构建和生产
- + 培养和表达优化测试
- + 细胞生长和蛋白表达/纯化
- + 蛋白体外表达（可选）
- + 同位素标记蛋白分析

（3）生物素标记

生物素既可以作为融合标签与目的蛋白进行重组表达，以便后续纯化和筛选工作，如进行噬菌体文库筛选时，其具有很高的筛选效率，同时也适用于 IHC 的组织特异性表达监测；蛋白进行生物素（Biotin）标记后，可以直接应用于 IP，磁珠分选。

（4）磁珠标记

磁性纳米球（MNS）是以高分子聚合物为核，表面包覆有磁性纳米粒子、带有功能基团（羧基、氨基）的纳米球系列产品。该系列产品具有分散性好、磁响应快、表面功能基团丰富、偶联容易、分离简单等特点，可应用于核酸纯化、蛋白纯化、亲和层析、细胞分选、免疫分析和临床诊断等多个生物医学领域。

（5）其他标记

我们也提供其他多种标记服务。例如：荧光素 FITC、荧光素 RBITC、辣根酶 HRP、碱性磷酸酶 AP、胶体金标记 Co-Au、Cy3、Cy5、Cy5.5、Cy7、APC、PE、Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 555、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 647 等。

ELISA 试剂盒开发技术服务

1. 服务简介

ELISA 试剂盒可以用于测定人血清、血浆及相关液体样本中所检测指标的含。百欧泰生物提供 ELISA 试剂盒开发服务，在制备的单抗和多抗基础上筛选出配对抗体，配对抗体可以同时与一种抗原结合，应用于开发双抗体夹心法 ELISA 试剂盒，可以应用于血液或其他生物样本中目标分子的 ELISA 检测。

ELISA 实验原理：应用双抗体夹心法测定标本中人所检测指标的水平。用纯化的所检测指标的 t 抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入所检测指标的，再与 HRP 标记的所检测指标的抗体结合，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成终端的黄色。颜色的深浅和样品中的所检测指标的呈正相关。用酶标仪在 150nm 波长下测定吸光度（OD 值），通过标准曲线计算样品中人所检测指标的浓度。

2. 服务流程

服务步骤	周期	交付内容	交付标准
抗体制备（兔多抗/鼠单抗/客户提供抗体）	6-12 月	ELISA 试剂盒	能够准确检测出梯度稀释的标准目标分子
配对抗体筛选			
标记抗体制备			
试剂盒检测体系验证			

3. 试剂盒使用注意事项

（1）试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。

（2）浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。

（3）各步加样均应使用校对后的加样器，以避免试验误差。一次加样时间建议控制在 5 分钟内，如标本数量多，建议使用排枪加样。

（4）建议每次测定时做标准曲线，推荐做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本 OD 值大于标准品孔 OD 值），请先用样品稀释液稀释一定倍数 n 倍后再测定，计算时请乘以总稀释倍数（ $\times n \times 5$ ）。

（5）封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。

(6) 底物请避光保存。

(7) 严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。

(8) 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。

(9) 不同批号试剂组分不得混用。

关于我们

抗体产品

一抗
二抗
抗体对
标签抗体
小分子抗原抗体
标记试剂盒

蛋白产品

重组蛋白
天然蛋白
多肽
半抗原
血清及免疫球蛋白

生物材料

金纳米颗粒
磁性微球
单分散微球
其他材料

热销产品

新冠抗体及其他
相关产品
常用试剂

百欧泰生物

Biotyscience



准确

科学

高端



地址：北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号



电话：010-5365 2239



QQ：499854788 8245898



邮箱：info@biotyscience.com

Tel: 010-5365 2239 **E-mail:** info@biotyscience.com