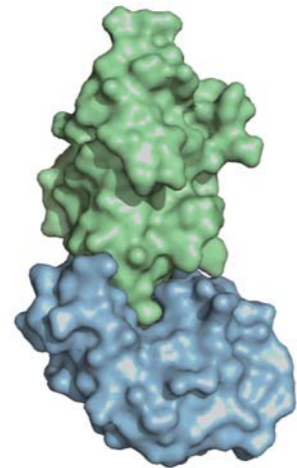


抗体工程服务手册

合成生物学赋能技术平台



Genes for life

苏州泓迅生物科技股份有限公司

苏州工业园区星湖街218号生物纳米园C20栋

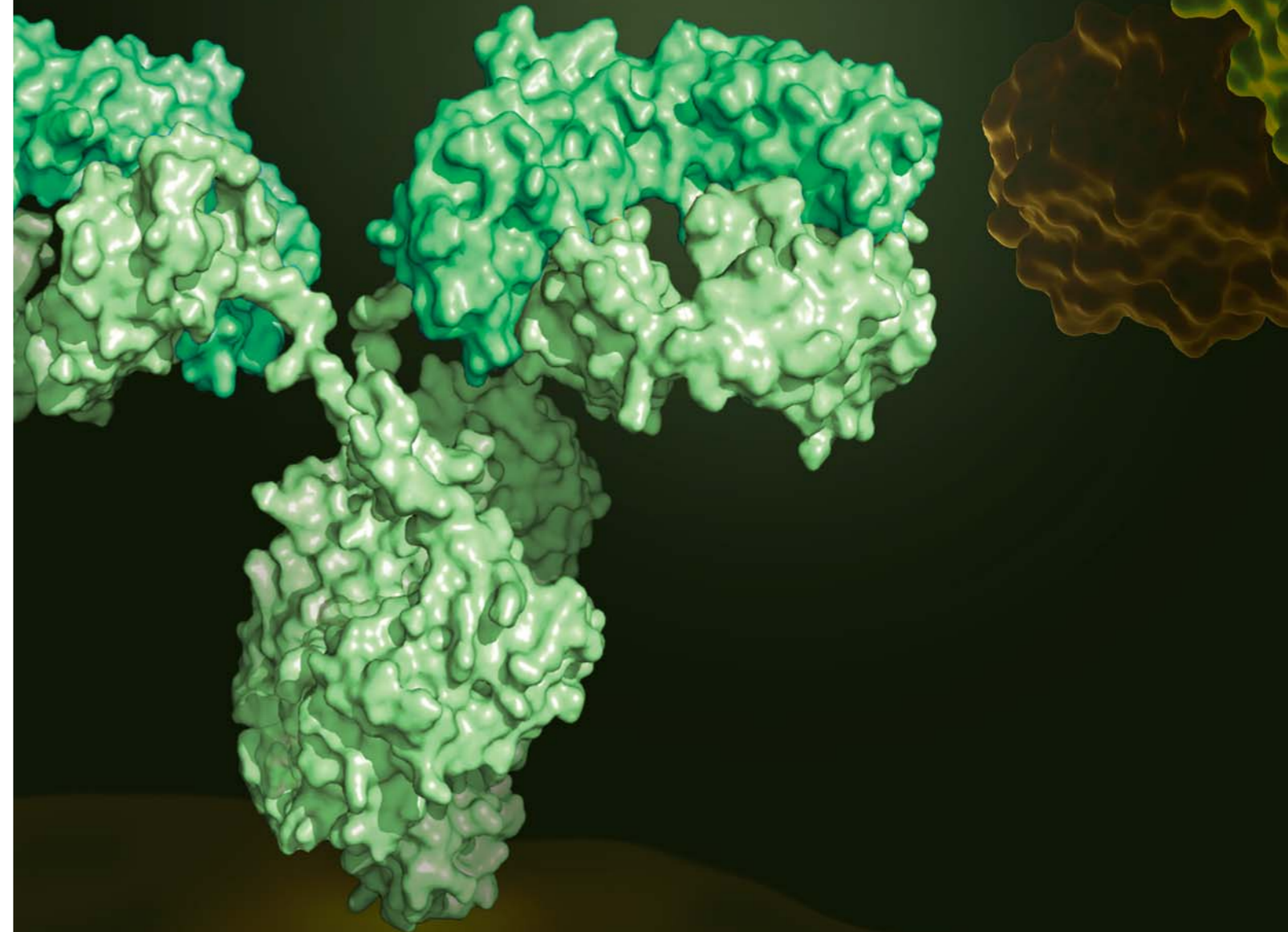
服务热线:4000-973-630

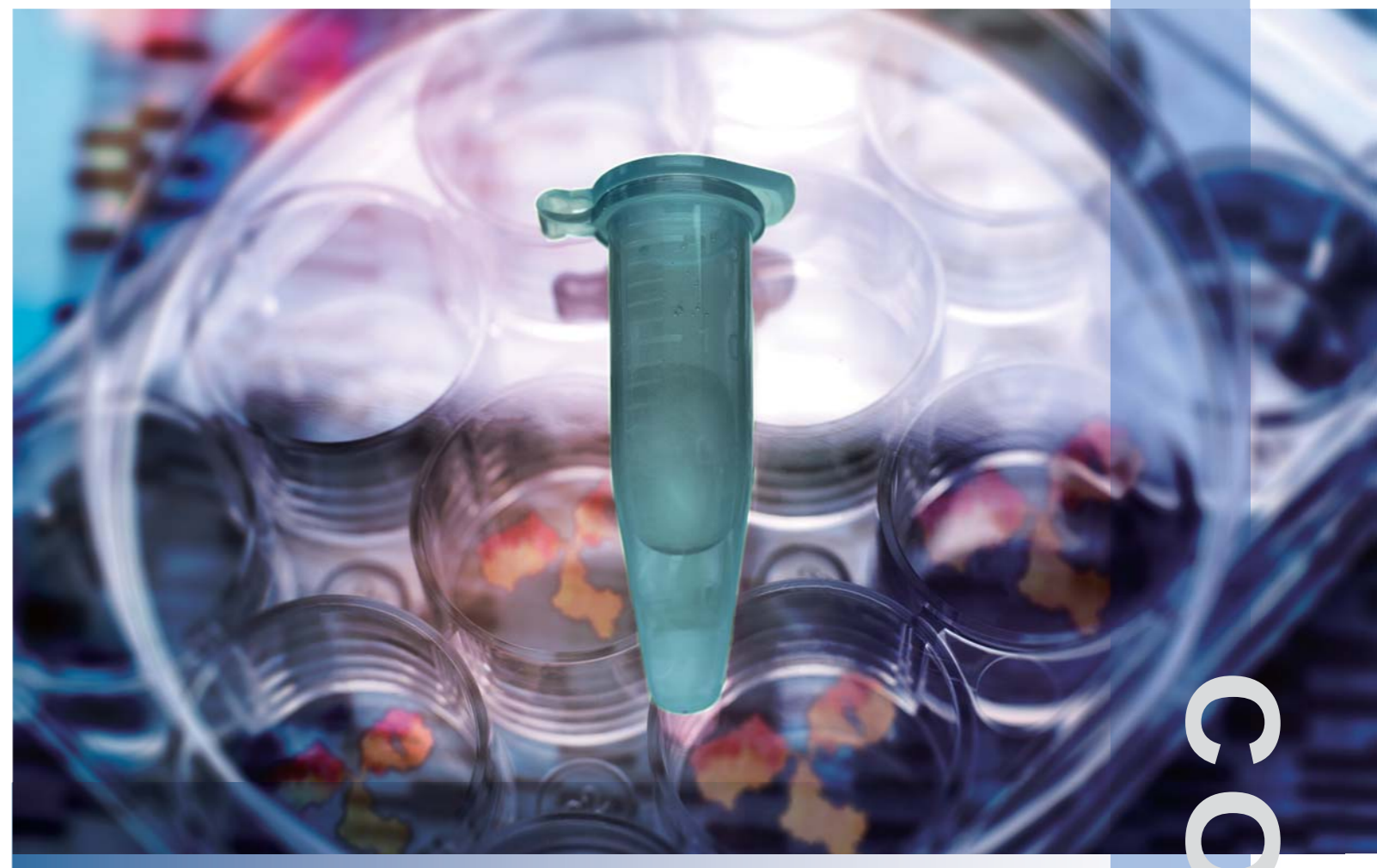
传 真:0512-62600337

泓迅官网:www.synbio-tech.com.cn

引物合成订购邮箱:order@synbio-tech.com

基因合成订购邮箱:support@synbio-tech.com





目录

Part 01 合成生物学赋能技术平台 02

Part 02 Geno™ Ab抗体发现平台 03

杂交瘤细胞抗体基因测序 03

抗体组库/免疫组库测序 05

Part 03 Syno® Ab抗体设计平台 07

De Novo 抗体设计 07

抗体人源化 09

Part 04 Syno®合成生物学技术平台 11

抗体基因合成 11

抗体文库合成 12

重组工程抗体制备 13

稳定细胞株构建 15

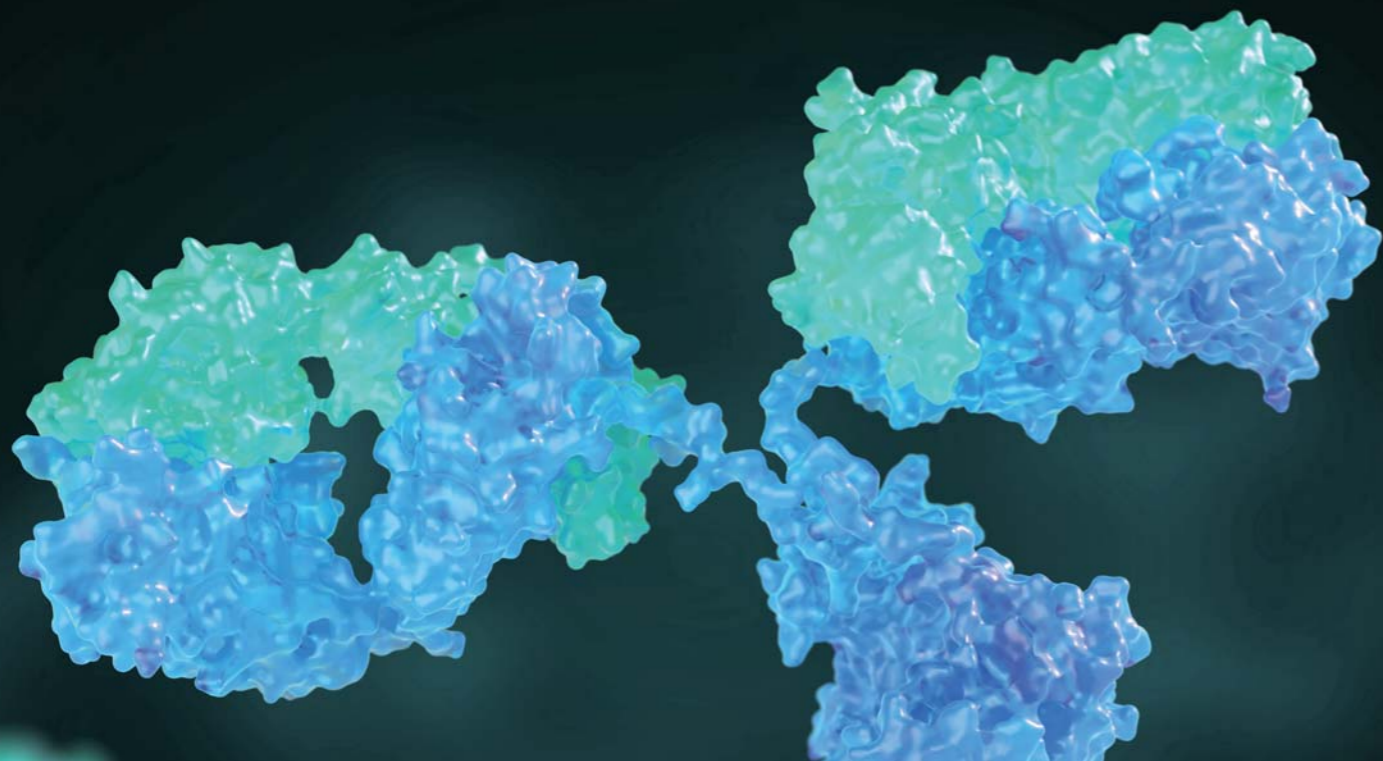
单克隆抗体制备 17

多克隆抗体制备 18

Part 05 抗体筛选平台 19

噬菌体展示技术 19

酵母展示技术 21

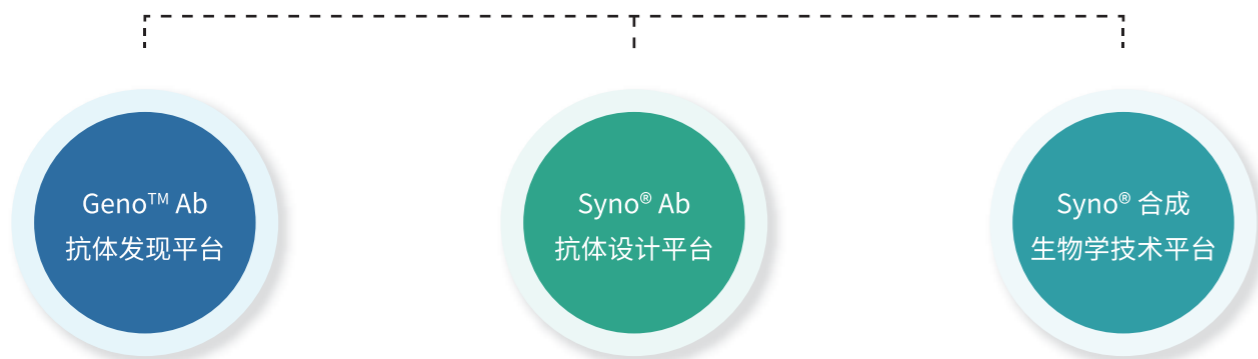


抗体工程是指利用重组DNA和蛋白质工程技术, 对抗体基因进行加工改造和重新装配, 转染适当的受体细胞后, 表达抗体分子, 或用细胞融合、化学修饰等方法改造抗体分子的技术。

经抗体工程改造的抗体分子是按人类设计重新组装的新型抗体分子, 可保留(或增加)天然抗体的特异性和主要生物学活性, 去除(减少或替代)无关结构, 在药物研发领域具有巨大的应用前景。

泓迅科技作为合成生物学赋能技术的领导者之一, 建立了全面的抗体工程一站式服务平台, 提供基于抗体“读”(测序&设计) — “写”(合成&表达) — “编”(亲和力成熟&人源化&耦连)的全方位技术服务, 为科研院所和生物制药公司提供高效、高品质、高性价比的工程抗体及技术支持。

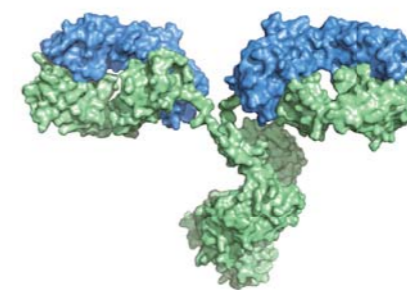
先进的 抗体工程技术平台



提供高效、准确的抗体测序服务, 专业的生物信息学团队深度挖掘序列信息, 为抗体发现提供可靠的支持。

采用基于计算机水平的分子模拟算法, 减少抗体发现的时间和成本, 缩短抗体药物的开发周期。

为客户提供快速、高效的抗体基因合成和重组抗体生产服务。



Geno™ Ab抗体发现平台

杂交瘤细胞抗体基因测序

在抗体工程中, 单克隆抗体基因序列是重组抗体表达, 抗体人源化等下游工程抗体开发中的重要组成部分。泓迅科技可提供针对杂交瘤细胞和B细胞的单克隆抗体测序服务, 测序范围包括抗体重链和轻链可变区或全长抗体序列。我们的团队在抗体序列分析及设计方面具有丰富的经验, 能够根据您的不同样本类型、数量等信息, 制定不同的测序策略, 准确熟练地测定多个物种(小鼠、大鼠、人、兔、仓鼠、骆驼、绵羊等)及各种抗体亚型(IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4, IgM, IgE, IgA等)的序列。

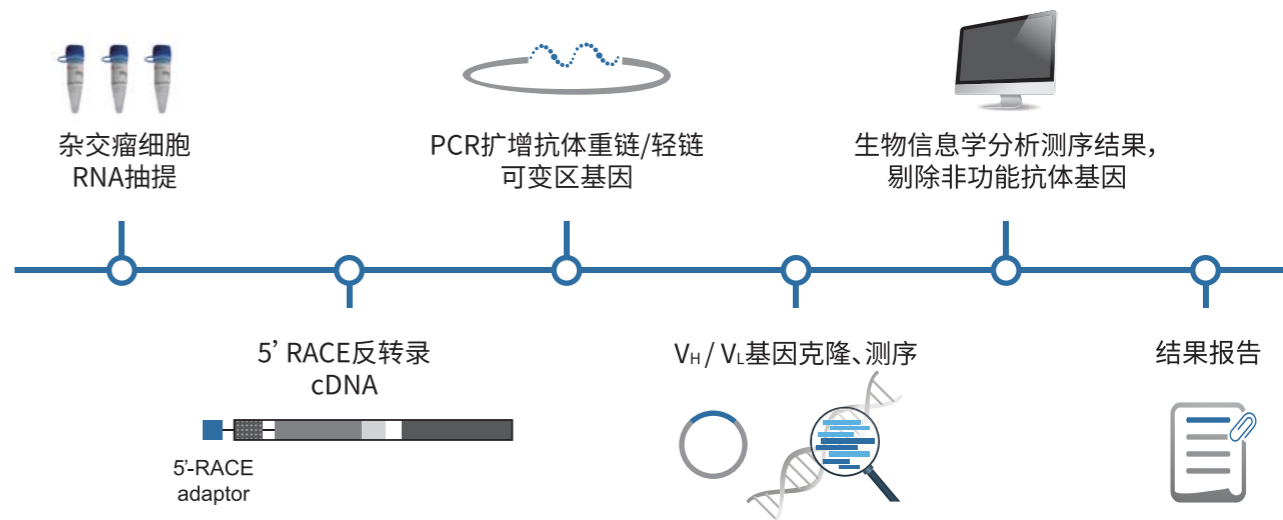
- ➔ 定制引物集, 采用专用自有试剂, 保证极高的成功率与快速交付速度。
- ➔ 全方位可追溯性, 100%确保序列信息的准确性, 结果可靠。
- ➔ 定制化测序策略, 支持高通量样本的测序。
- ➔ 抗体基因测序、合成及表达纯化一站式解决方案。



服务内容

● 策略一

泓迅科技采用5' RACE和Sanger测序技术已成功扩增、克隆和测序了超过10,000种杂交瘤细胞系, 超过95%的样本同时鉴定出重链和轻链。即使是技术难度大的样品, 泓迅科技的解决方案在许多案例中也展现出较高的成功率。



● 策略二

利用二代测序更高的灵敏度、精度、通量的特点，泓讯科技进一步升级了杂交瘤抗体基因测序技术，将转录组测序与生物信息学分析相结合，使杂交瘤测序的成功率提高至99%，为多种物种样本与困难样本的测序提供了可能。



交付内容

单克隆抗体轻链和重链可变区序列	✓
单克隆抗体轻链和重链可变区与前导区序列	✓
全长抗体测序 (VH、VL、前导区和恒定区)	✓
包含单克隆抗体序列的质粒 (可选)	✓

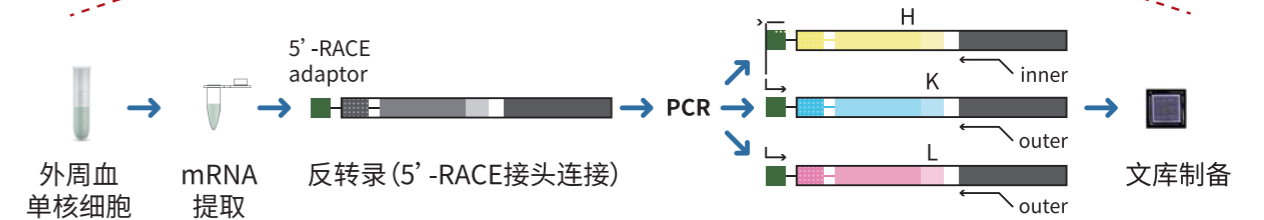
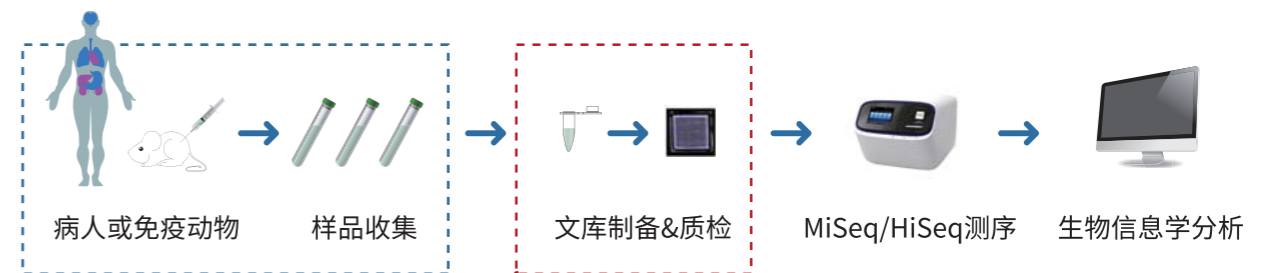


应用方向

- ▶ 为申请保护性专利提供有效单抗序列信息
- ▶ 保留单克隆抗体序列信息，防止杂交瘤细胞丢失单抗信息
- ▶ 帮助目标细胞株的选择，表达纯度更高的重组单克隆抗体
- ▶ 缩短杂交瘤细胞克隆化耗时过程，加速单克隆抗体产生速度
- ▶ 亲和力成熟，进一步提高单抗的亲和力
- ▶ 构建基因工程抗体或人源化抗体

抗体组库/免疫组库测序

免疫组库测序 (Immuno-Seq) 是以T/B淋巴细胞为研究目标，以5' RACE技术扩增决定B细胞受体 (BCR) 或T细胞受体 (TCR) 多样性的互补决定区 (CDR区)，结合高通量测序技术，全面评估免疫系统的多样性。Immuno-Seq技术可以观察和分析T细胞和B细胞，具有较高的测序深度和特异性。在疾病监控、抗体生产、疫苗研究、健康体检等领域有广泛的应用。



- ➔ 采用RACE技术和专门优化的PCR扩增体系与程序，降低免疫组库中基因扩增偏向性
- ➔ 多样化的NGS分析平台
- ➔ 极高的成功率与快速交付速度
- ➔ 完备的生物信息学分析，深度挖掘抗体序列信息



交付内容

NGS测序数据	✓
生物信息学数据分析结果	✓

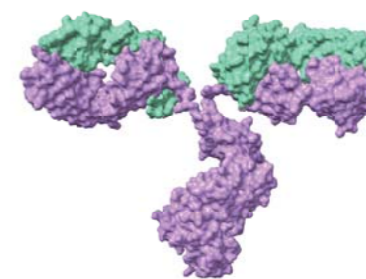


应用方向

- ▶ 免疫组库或抗体组库多样性分析表征健康状况
- ▶ 示踪抗原特异性抗体发育过程, 开发人源化抗体
- ▶ 评价疫苗保护性能

案例分析

泓迅科技通过NGS测序技术成功获得并分析了寨卡病毒感染产生的抗体。



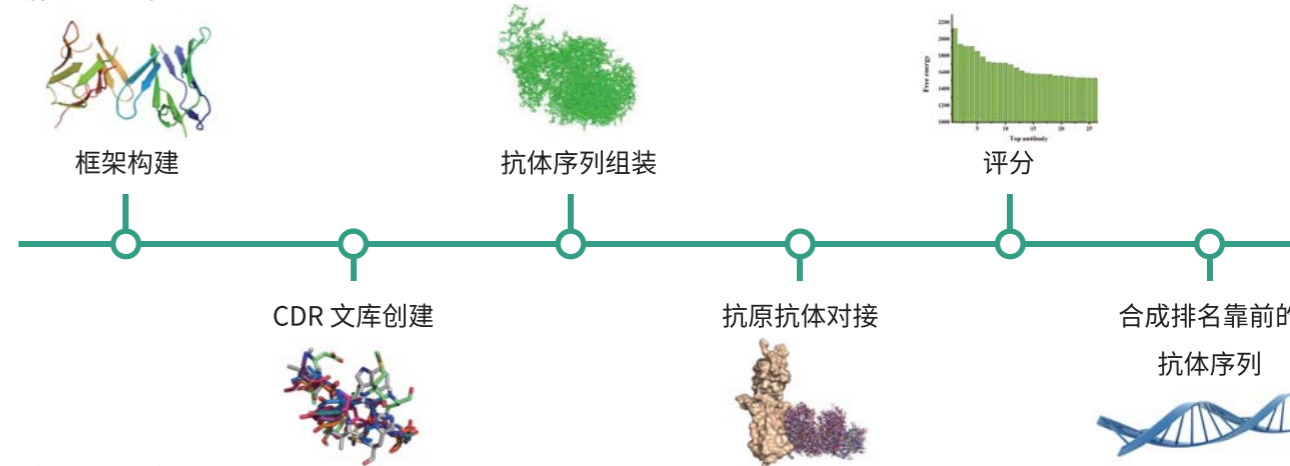
Syno[®] Ab抗体设计平台

De Novo 抗体设计

泓迅科技的Syno[®] Ab抗体平台, 基于计算机水平的分子模拟技术, 可提供抗体*de novo*设计服务。我们以原子水平计算机模拟抗体分子的各种生物学行为, 利用抗体结构作为起点, 解决抗体的理论设计等一系列问题。分子模拟技术与实验的互相结合, 能够帮助广大客户有效降低抗体研发总成本、缩短研发周期。

- 强大的类药抗体生物计算
- 可提供抗体人源化、全人源抗体库设计等服务, 促进“生物学更优”的抗体药物开发
- 采用专有的分子模拟算法, 有效模拟抗原-抗体对接技术, 为所设计的抗体寻找最佳亲和力

服务流程



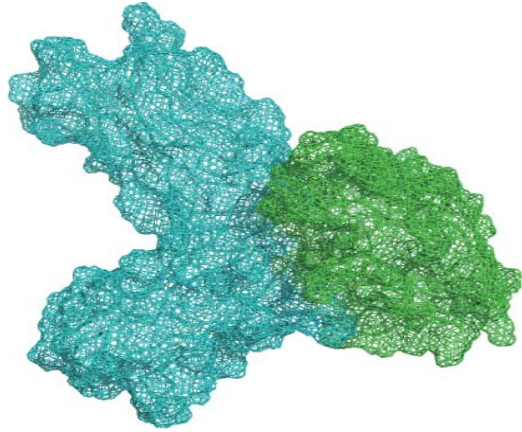
交付内容

- 抗体序列报告
- 抗原结构分析报告
- 合成的先导抗体或抗体库

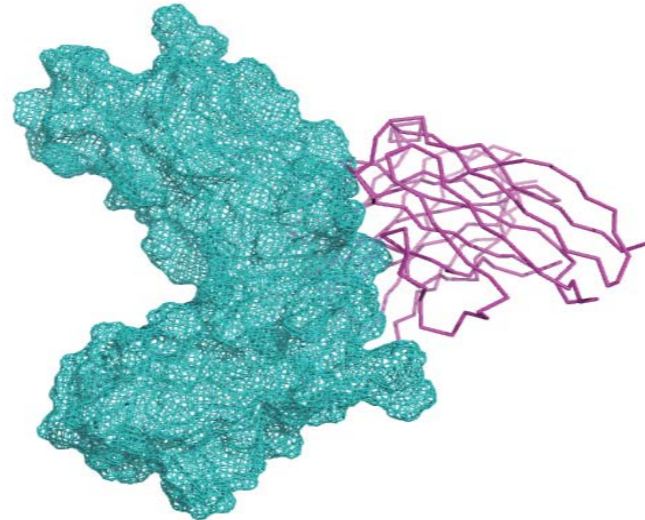
泓迅案例

泓迅科技拥有抗PD-L1抗体及其制备方法和应用的发明专利(专利号CN109053891A)。我们通过生物信息学分析建立了抗体序列模型,设计了抗体序列,并利用分子生物学构建方法将抗体序列转入到宿主细胞,表达纯化后获得了具有PD-L1抗原结合活性的抗体,避免了复杂繁琐的免疫反应。

1. 基于靶蛋白与配体蛋白界面的提取潜在表位分析



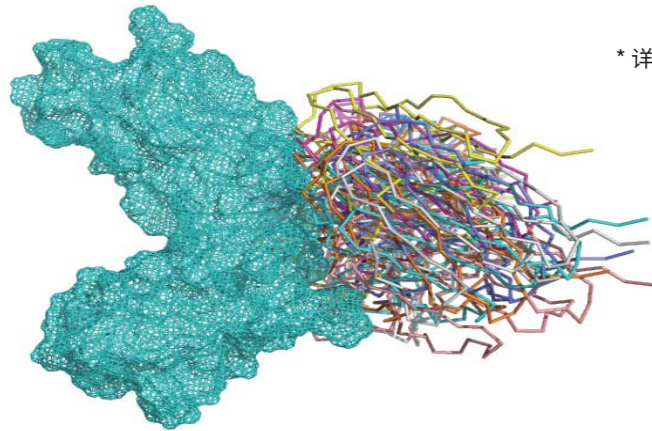
4. Hitting抗体精制 - 根据抗体不同位点的AA偏向性来提高候选抗体与抗原表位结合的稳定性



5. 基于进化规律及优化DNS筛选最优抗体hit并合成基因/抗体库

2. 基于3D结构构建抗体文库

3. 抗体与抗原表位对接



* 详细信息请咨询 support@synbio-tech.com

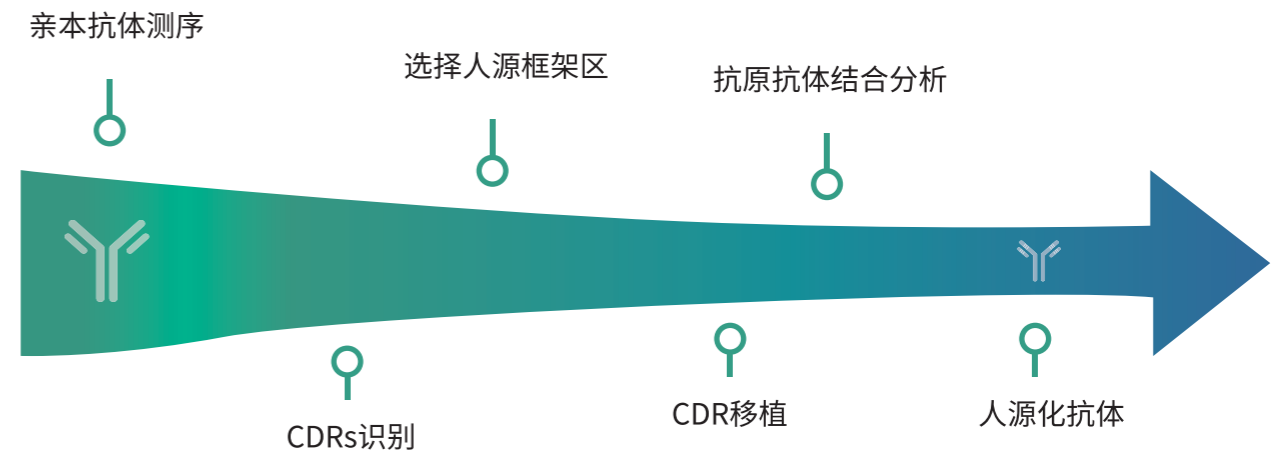
抗体人源化

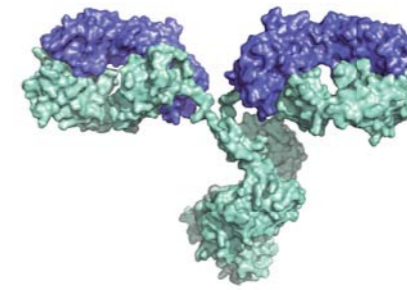
泓迅科技基于成熟的文库合成技术及计算机建模和模拟技术,整合了生物信息学和结构生物学的方法,开发了一套集成的抗体人源化和亲和力成熟平台。该平台依据同源性、关键残基位点、残基溶剂可及性等因素对人源抗体骨架序列进行筛选,然后结合CDR移植的适应性筛选出具有与亲本抗体相当或更好的特异性、生物活性、热稳定性和生产力的人源化抗体以供表达。

- 丰富的经验:我们的团队在人源化抗体设计、筛选和生产方面具有实践经验,以确保客户项目的成功
- 领先的设计:来自多个抗体数据库的有效且可靠的抗体建模
- 高效的筛选:噬菌体展示平台筛选提高了有效抗体的筛选效率



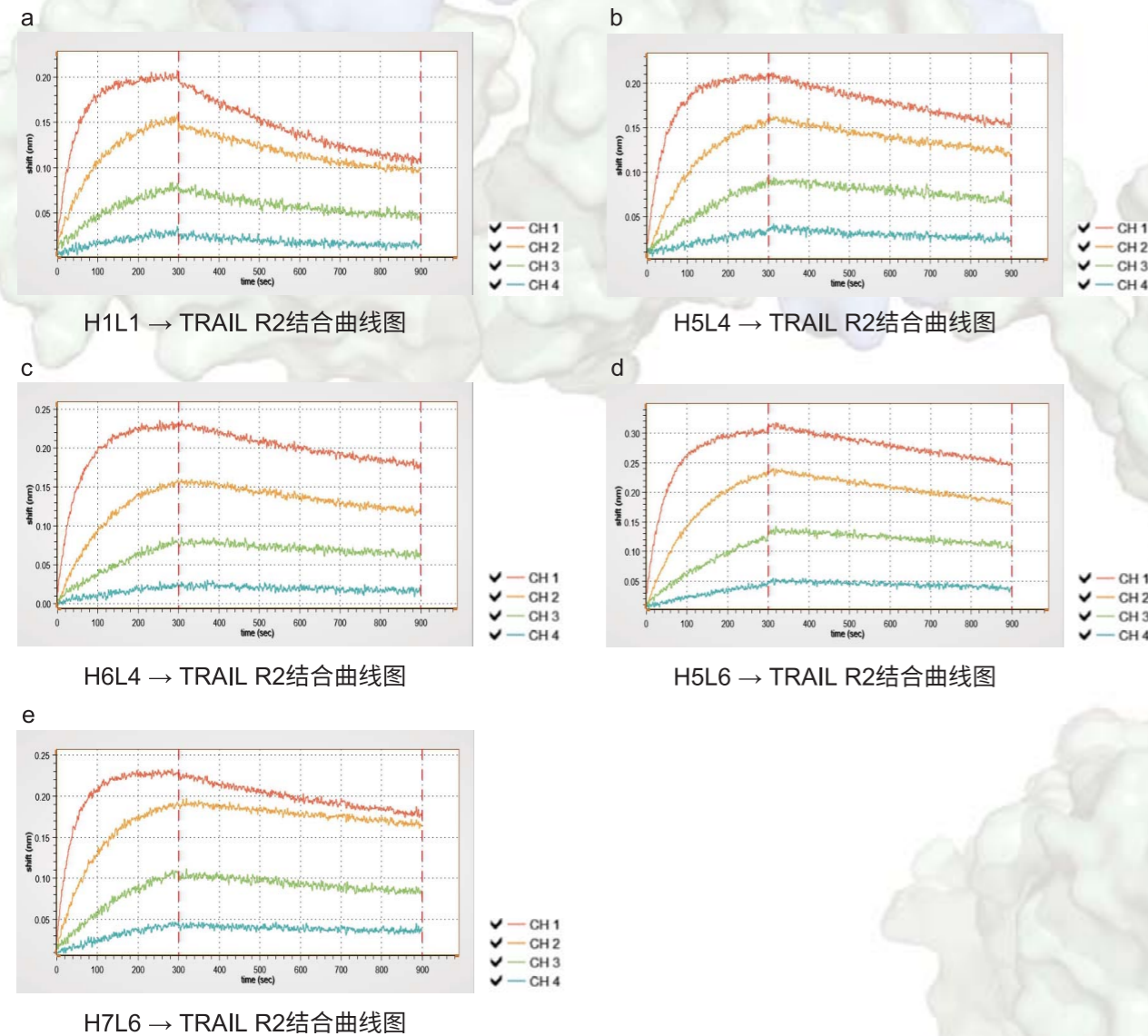
服务流程





泓迅案例

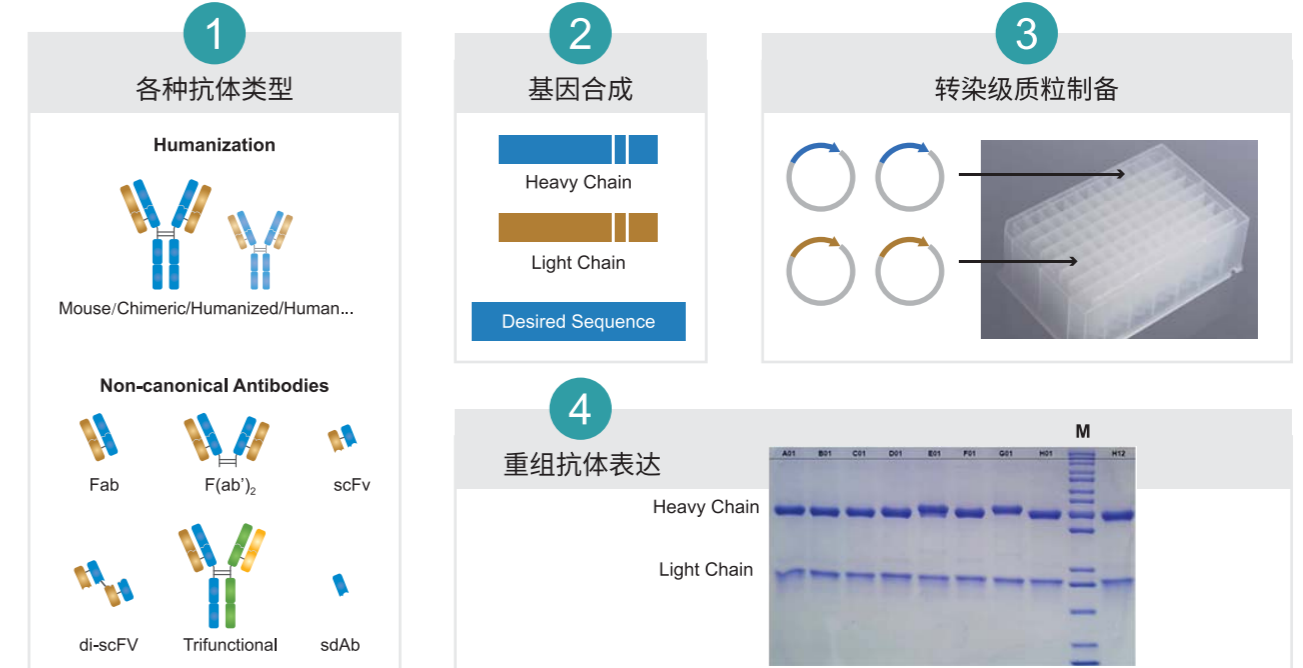
利用泓迅科技Syno® Ab平台,设计并筛选了25个人源化抗体,通过Elisa检测结果,选择H5L4、H6L4、H5L6、H7L6四个抗体进行下一步亲和力检测(H1L1为对照),人源化抗体亲和力检测结果如下图所示:



Syno®合成生物学技术平台

抗体基因合成

抗体序列的优化和载体的构建是影响抗体蛋白高效表达的重要因素。泓迅科技通过自主研发的密码子优化技术和完备的Syno® GS合成平台,可提供高效、准确的抗体基因合成及克隆服务,以及下游重组抗体的高效表达服务,以协助抗体工程研究。



- ➔ 一站式服务: 提供从基因合成、质粒制备到抗体重组表达的一站式解决方案
- ➔ 序列保证: Sanger测序确保100%的序列准确性
- ➔ 高效率: 专利的密码子优化技术及自主开发的高表达载体,可实现各种类型的抗体及抗体片段的表达
- ➔ 高通量: 高通量抗体基因合成&表达平台,实现标准化的量产



交付内容

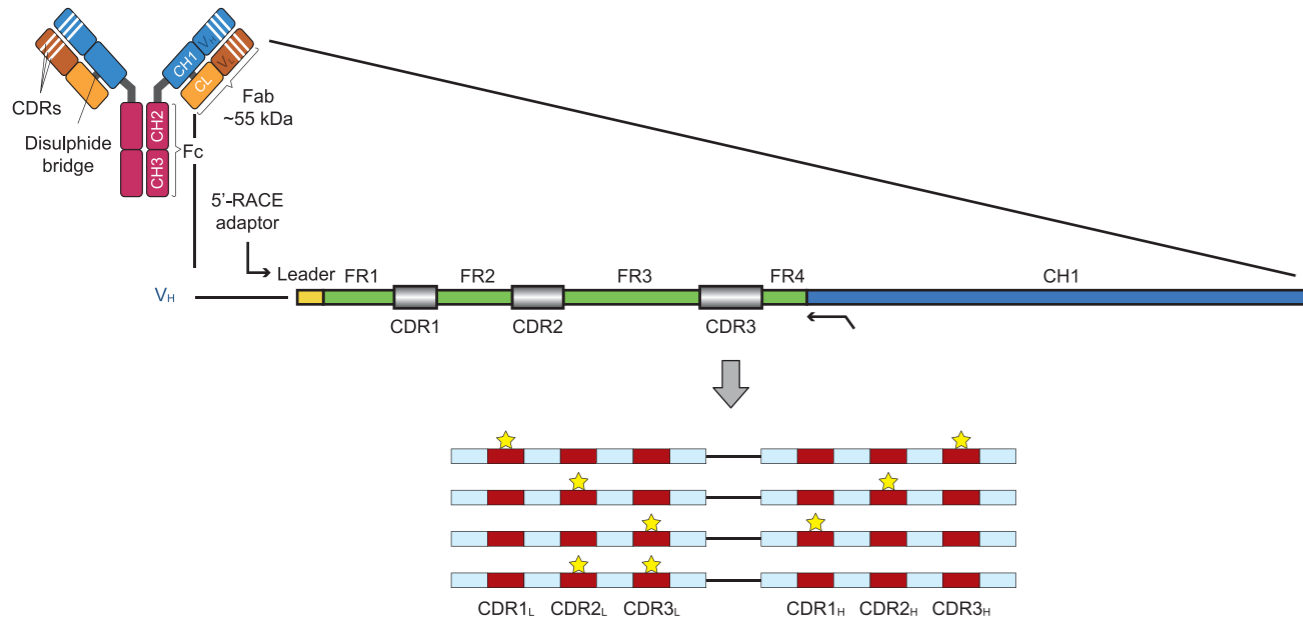
包含抗体序列的质粒

COA文件



抗体文库合成

合成抗体库有助于设计、构建和筛选高效的功能性抗体。与天然抗体相比，合成抗体库具有优化的框架序列和可控制的CDRs可变区等独特的优势，可用于提高所研究抗体的结合动力学和亲和力等研究。泓迅科技可利用三聚体寡核苷酸进行抗体CDRs区域的定向突变以创建scFv或纳米抗体库。我们已成功交付了数百个高质量、定制库化、精准合成的突变文库，通过高合成效率的Trimer引物构建的抗体文库为抗体亲和力成熟、药物靶标筛选、特异性抗体发现等多种突破性研究提供技术保障。



- 精确定位: 精准控制密码子偏好和 CDRs 中每个突变位点的氨基酸组成和比例
- 高度多样性: 精致的设计创造了合成抗体库的高度多样性
- 高质量文库: 高合成效率保障文库的正确率与库容, 降低复杂文库的筛选难度
- 成本效益: 有竞争力的价格与周期



交付内容

液态文库质粒



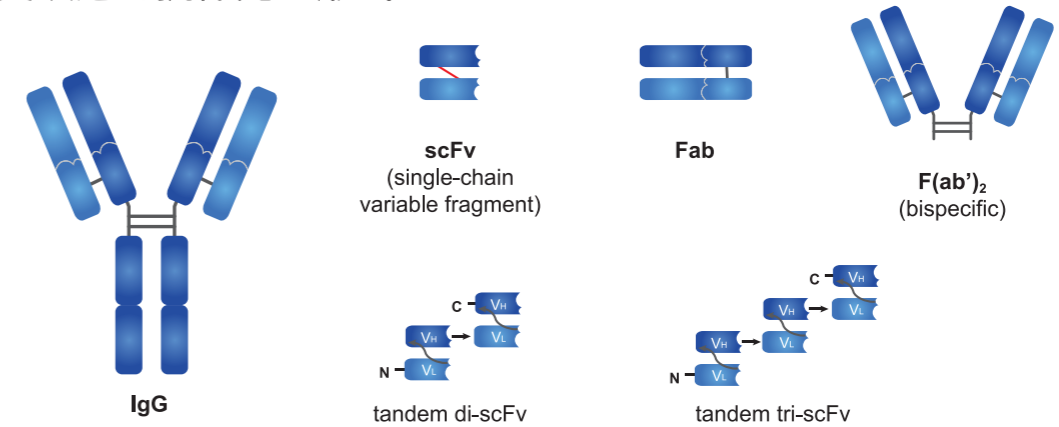
COA文件



重组工程抗体制备

随着抗体工程技术的发展，多种类型的工程抗体已设计应用于癌症诊断和免疫治疗等。凭借多年抗体工程领域的研究经验和领先的专业技能，泓迅科技能够提供一系列形式多样化的重组抗体制备服务，包括单链抗体 (scFv)、抗原结合片段 (Fab)、双特异性抗体、嵌合抗体制备等。我们为工程抗体的生产提供一站式服务，从密码子优化、基因合成&克隆、转染级质粒制备到重组抗体生产，只需要几周时间，极大地推动了科研项目和候选药物开发的进展。

极受欢迎的抗体配置形式



- 一站式服务: 提供从杂交瘤测序、序列设计、载体构建到重组抗体表达纯化一站式服务
- 高表达: 自主开发的多种高表达载体
- 高通量: 高通量基因合成和抗体表达平台, 实现标准化的量产
- 高效率: 最快2周交付
- 高标准: 全流程标准化操作与风险控制

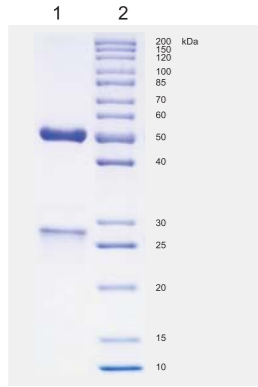


服务详情

实验项目	服务内容	交付内容
抗体发现	• 杂交瘤测序或免疫组库测序 (可选)	• 抗体基因测序报告
基因合成	• 序列设计及载体构建: 全抗、Fab、scFv、VHH、BsAb等 • 转染级质粒制备	• 2-5μg冻干质粒1管
重组抗体表达及纯化	• 30ml, 100ml, 200ml及更大规模重组抗体表达 • 抗体亲和纯化及纯度检测 (SDS-PAGE, SEC-HPLC), 纯度大于95% • 内毒素: <1EU/mg	• 重组抗体产品 • COA文件

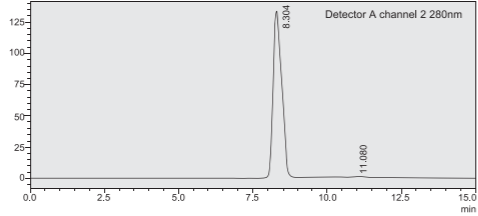
泓迅案例

SDS-PAGE



Lane 1: Recombinant Antibody IgG, Reducing
Lane 2: Protein Marker

SEC-HPLC (Optional)



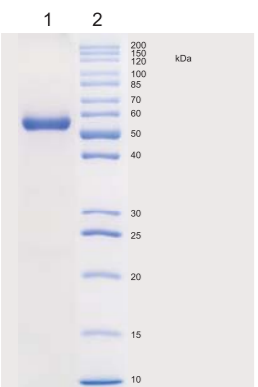
Detector A Channel 2 280nm

Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.
1	8.304	2782111	124129	99.524
2	11.080	2427374	722	0.476
Total		2795426	124850	

QC Results

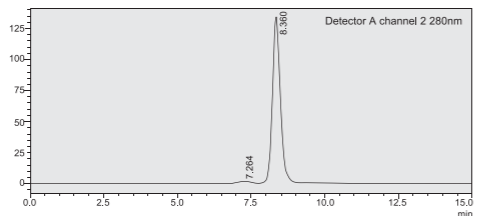
Test Items	Assay Description	Results
Purity	SDS-PAGE	>95%
Purity (Optional)	SEC-HPLC	99.524%
Endotoxin	LAL method	<1 EU/mg

SDS-PAGE



Lane 1: scFv Antibody
Lane 2: Protein Marker

SEC-HPLC (Optional)



Detector A Channel 2 280nm

Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.
1	7.264	51822	1768	2.090
2	8.360	2427374	134039	97.910
Total		2479196	135807	

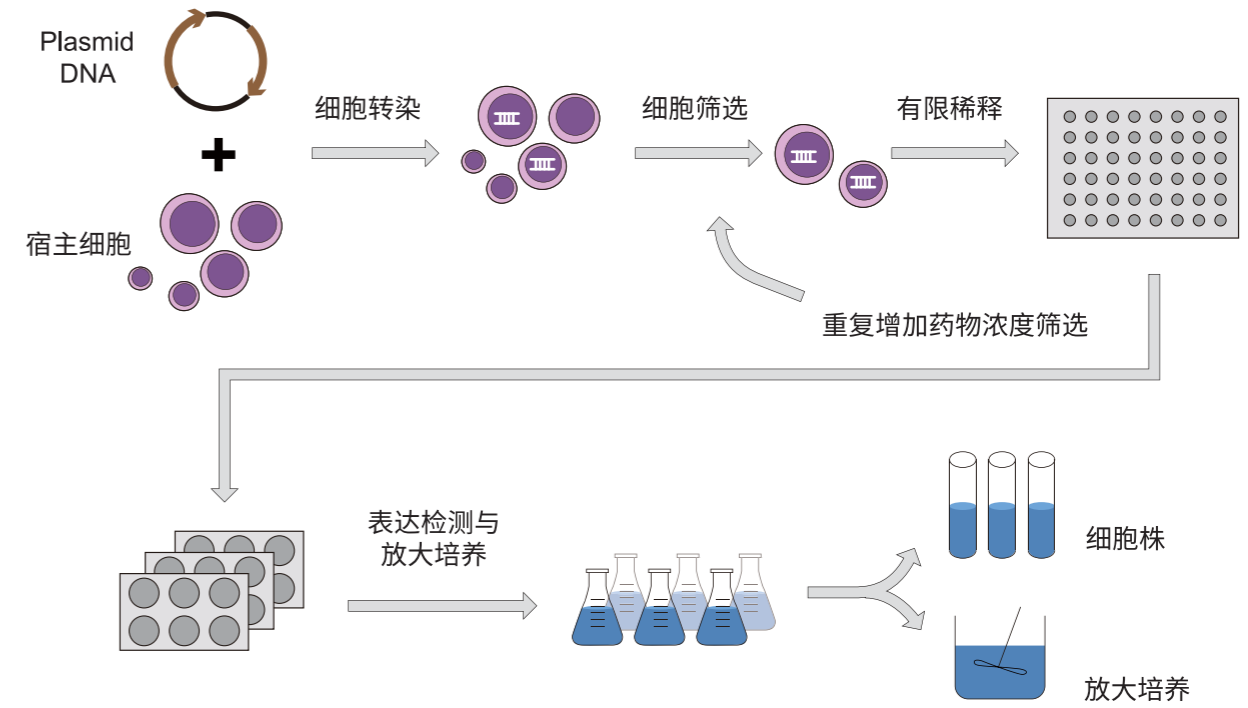
QC Results

Test Items	Assay Description	Results
Purity	SDS-PAGE	>95%
Purity (Optional)	SEC-HPLC	97.910%
Endotoxin	LAL method	<1 EU/mg

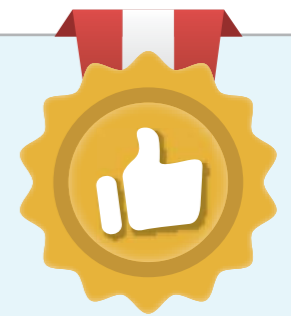
稳定细胞株构建

稳定细胞株构建是指将外源DNA克隆到具有某种抗性或者选择基因的载体上, 转染宿主细胞后, 利用载体中所含的选择标志进行筛选, 得到可稳定表达目的蛋白的细胞株。泓迅科技提供一系列稳定细胞株构建服务, 用于全长抗体及抗体片段、Fc融合蛋白、多种细胞表面受体、胞质和分泌蛋白等重组蛋白/抗体的稳定及规模化生产。

稳定细胞株构建实验流程



- 外源基因严格鉴定, 细胞无污染
- CHO1.0稳转载体, 配合嘌呤霉素+MTX筛选系统
- 稳定转染及Pool筛选, 周期8周左右
- 可对重组蛋白/抗体全长或片段进行个性化表达

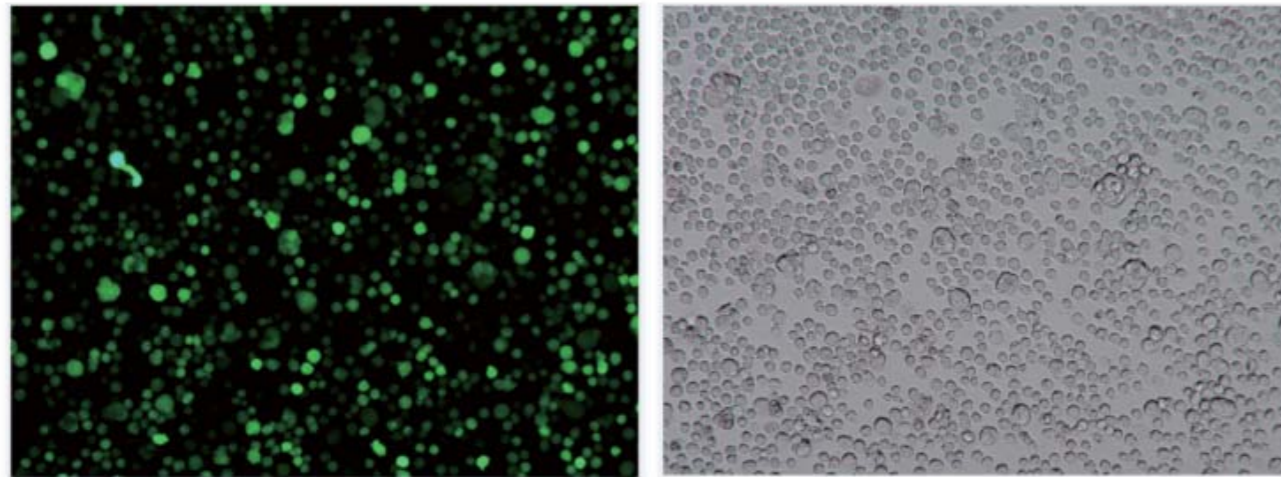


服务详情

服务项目	服务详情	转染方式	系统	项目周期	验证方式	交付项目
常规过表达 稳转细胞株构建	稳定转染及pool筛选	• 质粒转染 • 慢病毒转染	293T、Hela、 A549等	2-3周	Western Blot、 免疫荧光 (IF) 验证	稳转细胞株pool
	稳定转染及单克隆筛选, 筛选至少20个单克隆细胞株			5-6周		1-3株稳转细胞株 表达报告
抗体稳转株构建	稳定转染及pool筛选	• 质粒转染	CHO1.0	8周		

泓迅案例

泓迅科技将GFP序列构建到CHO 1.0载体上, 然后将构建好的GFP质粒转化到CHO细胞中进行稳定转染及Pool筛选, 获得GFP-CHO稳转株, 经过多轮药物筛选后, 显微镜下观察荧光细胞所占比例大于90%。

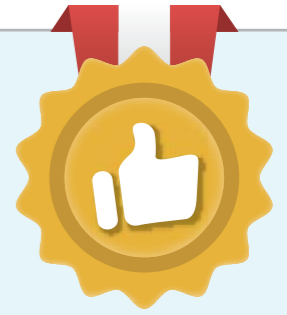


GFP-CHO稳转株阳性率

单克隆抗体制备

单克隆抗体技术是将产生抗体的单个B淋巴细胞同骨髓瘤细胞进行细胞融合, 获得既能产生抗体, 又能无限增殖的杂种细胞, 并以此生产单克隆抗体。杂交瘤技术已经在治疗性单克隆抗体的发现以及疾病诊断和预防等方面展现出显著成就。小鼠是单克隆抗体生产的主要宿主动物。泓迅科技可以为客户提供定制化单克隆抗体生产的全方位服务, 包括动物免疫、杂交瘤开发、抗体制备、抗体功能筛选分析等。

- 一站式服务: 我们可以提供从基因合成, 抗原制备到单克隆抗体生成及检测的全过程服务
- 高效价的单克隆抗体: 高质量、高效价的单克隆抗体
- 定制化服务: 为每一位客户提供专属的实验方案, 满足您的个性化需求
- 专业的项目沟通: 在项目进行过程中保持紧密的进度反馈及问题沟通
- 保密性: 作为您可以信赖的合作伙伴, 我们会对您的序列和产品保持高度的保密性



服务详情

实验项目	服务内容	交付内容	周期
动物免疫	<ul style="list-style-type: none"> • 免疫前采血 • 免疫5只Balb/c小鼠 • 4次免疫 • 最终采血 	<ul style="list-style-type: none"> • 阶段性报告 (含抗血清效价检测结果) • 剩余的抗原 	6-8周
细胞融合及筛选	<ul style="list-style-type: none"> • 融合骨髓瘤细胞和脾细胞 • 亚克隆及细胞扩增 • 筛选稳定分泌抗体的杂交瘤细胞株 • 细胞株冻存 	<ul style="list-style-type: none"> • 2-5株杂交瘤细胞株, 每株细胞2支冻存管 • 阶段性报告 (含筛选数据) 	5-6周
抗体生产及纯化	<ul style="list-style-type: none"> • 1株单克隆杂交瘤细胞培养 • Protein A/G纯化抗体 • ELISA检测 • 纯度检测 • 浓度检测 	<ul style="list-style-type: none"> • 1-3mg单克隆抗体, 效价1×10^5 • 终版实验报告 	约4周

多克隆抗体制备

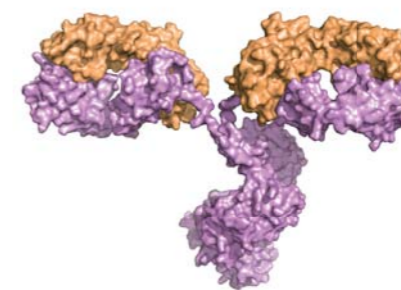
泓迅科技可提供从抗原设计、基因合成、抗原制备、动物免疫到抗体纯化一站式多克隆抗体制备服务。另有,丰富的宿主动物(如小鼠,兔子,山羊等)和多样的抗原种类(如多肽抗原,蛋白抗原,小分子抗原及其他抗原)供您选择。泓迅科技技术团队将根据您的不同实验需求为您打造专属的实验方案,最终交付给您高质量的多克隆抗体,助力您的下游实验。

- 高效价的多克隆抗体:ELISA效价大于1:100000;对于蛋白抗原,交付的多抗Western Blot结果呈阳性
- 定制化服务:为每一位客户提供专属的实验方案,满足您的个性化需求
- 一站式服务:我们可以提供从基因合成,抗原制备到多克隆抗体生成及检测的全过程服务
- 保密性:作为您可以信赖的合作伙伴,我们会对您的序列和产品保持高度的保密性
- 专业的项目沟通:在项目进行过程中保持紧密的进度反馈及问题沟通



服务详情 >>

实验项目	服务内容	交付内容	周期
抗原制备	客户提供抗原: 1. 多肽10mg 2. 重组蛋白5~8mg, 85%以上的纯度 3. 小分子抗原	制备的抗原QC报告	2-4 周
	客户提供抗原序列由泓迅科技合成或制备 1. 设计并合成多肽, 偶联KLH/BSA/OVA 2. 密码子优化, 基因合成, 重组蛋白表达纯化		
动物免疫	免疫3~4次	5ml~50ml免疫血清	6~7 周
抗体纯化	抗原亲和纯化或Protein A/G亲和纯化	0.5-10 mg纯化抗体, 纯度>80%	1-2 周
QC检测	抗体纯度检测 (SDS-PAGE) 抗原抗体特异性检测 (Western Blot analysis) 抗体效价检测 (ELISA, 效价大于1:100000)	QC报告	1-2 周
其他附加检测	抗体亲和力检测 抗体标记 抗体亚型鉴定	询问	询问



抗体筛选平台

成熟而高效的抗体筛选平台,对于获得高亲和力、高特异性的抗体药物是必不可少的。泓迅科技拥有包括噬菌体展示及酵母展示在内的多个筛选系统,配合不同的文库以及筛选策略,可以高效快速地从各类抗体文库中分离出高亲和力、稳定性的抗体,广泛应用于抗体的从头设计及筛选、亲和力成熟等领域。

- 强大的生物计算:领先的生物设计服务和专有软件平台协助抗体发现与重头设计
- 高质量的文库:多种表面展示系统满足不同靶标蛋白/抗体的筛选需求
- 性价比高:筛选速度快,及具有竞争力的价格

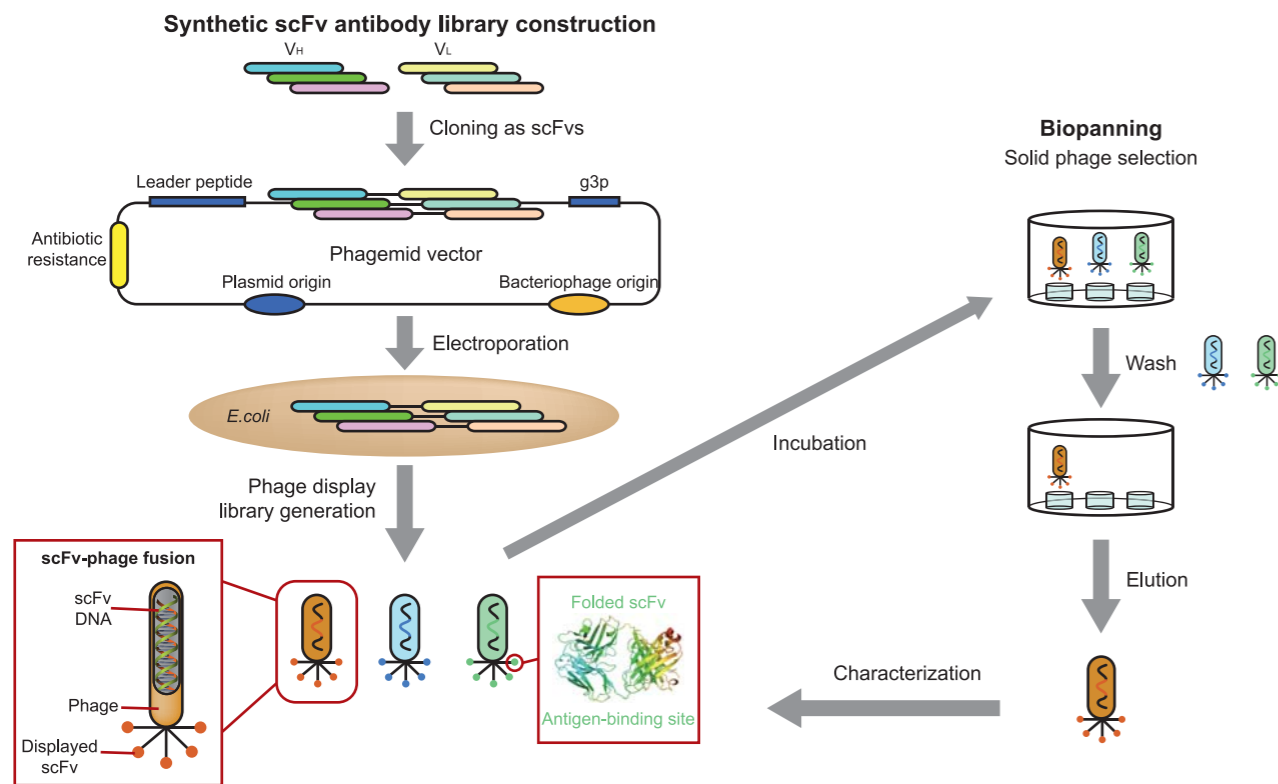


噬菌体展示技术

噬菌体展示技术是一种广泛应用于蛋白质-蛋白质、蛋白质-肽和蛋白质-DNA相互作用研究的技术。随着抗体药物和疫苗的发展,噬菌体展示文库对抗体工程产生了深刻的影响,在短时间内筛选和鉴定数十亿的靶结合蛋白成为可能。

泓迅科技利用M13单链丝状噬菌体显示系统,使重组蛋白或抗体与噬菌体pIII蛋白共表达。在辅助噬菌体的帮助下,蛋白质或抗体参与噬菌体组装,并显示在噬菌体表面,形成噬菌体展示文库。经过与特异性靶分子的多轮亲和筛选,能够特异性结合靶分子的抗体分子将被富集,并通过测序获得相应的DNA信息。泓迅科技的噬菌体展示技术已成功应用于合成scFv抗体库的构建,我们还可以根据客户的特殊需求提供灵活高效的定制服务。

服务流程



服务详情

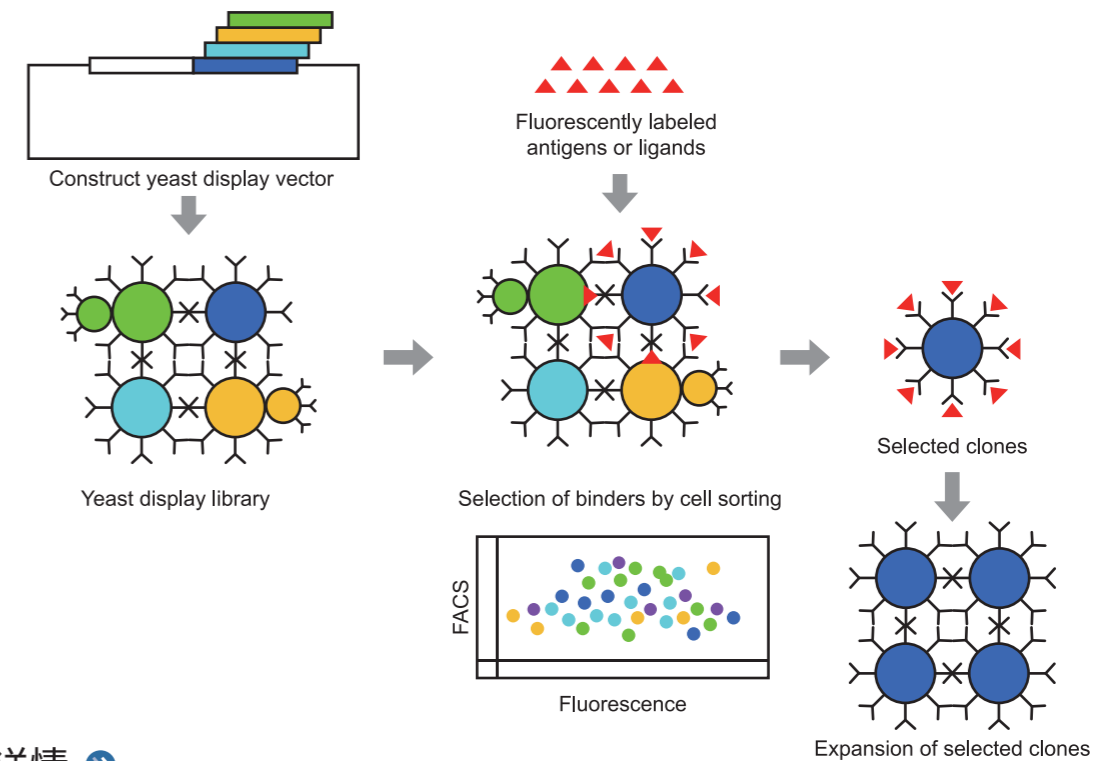
实验项目	服务内容	交付内容
序列设计	通过组合突变的方法进行突变文库的设计与合成	<ul style="list-style-type: none"> 文库质粒 COA 噬菌体文库(可选) 筛选得到的抗体序列及重组抗体产品(可选)
载体构建	在噬菌体展示载体中进行序列组装与克隆	
抗体库构建	转化TG1感受态细胞,制备噬菌体文库	
噬菌体展示文库构建	辅助噬菌体感染,形成噬菌体展示文库	
文库筛选	经过多轮筛选与ELISA检测,得到目标抗体序列	
测序鉴定	对筛选得到的目标抗体进行测序获得对应的抗体序列	
重组抗体表达	进行重组抗体表达得到单克隆抗体	

酵母展示技术

酵母表面展示是一种真核蛋白表达系统,它是一类筛选蛋白突变体库的高通量筛选方法,在抗体表达、体外成熟和筛选等研究中应用广泛,具有高效、灵敏等特点。其基本原理是将外原靶基因与 α -凝集素Aga2p亚基的C端相连,形成融合蛋白,进而Aga2p通过两个二硫键与Aga1p亚基结合,随着Aga1p通过 β 1,6-葡聚糖共价键锚定在酵母细胞壁上,靶蛋白可以展示在细胞表面,形成酵母展示文库。

与噬菌体展示等其他技术相比,酵母展示是一种真核表达系统,能够产生含有翻译后修饰的哺乳动物蛋白质。此外,酵母展示技术与流式细胞术分析相结合,不依赖于抗体表达水平的高低,即可对抗体亲和力进行分选,得到亲和力高、中、低的克隆。

服务流程



服务详情

实验项目	服务内容	交付内容
序列设计	通过组合突变的方法进行突变文库的设计与合成	<ul style="list-style-type: none"> 文库质粒 COA 酵母文库(可选) 筛选得到的抗体序列及重组抗体产品(可选)
载体构建	在酵母展示载体中进行序列组装与克隆	
酵母展示文库构建	转化酵母细胞,形成酵母展示文库	
文库筛选	加入荧光标记的抗原或配体进行孵育,然后采用流式细胞仪进行细胞分选,根据抗体亲和力对细胞群体进行划分,收集高、中亲和力的抗体细胞	
测序鉴定	对分选得到的单克隆进行培养及抗原结合鉴定,并挑选阳性克隆进行测序验证	
重组抗体表达	进行重组抗体表达得到单克隆抗体	