

碧云天抗体定制技术服务

Custom Antibody Services by Beyotime



碧云天
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订购热线: 400-168-3301或800-8283301
技术咨询: info@beyotime.com
技术服务: service@beyotime.com
网址: <http://www.beyotime.com>

碧云天抗体定制技术服务

概述

- 抗体是一种由B细胞分泌，被免疫系统用来鉴别与中和外来物质如细菌、病毒等的大Y形蛋白质，被广泛应用于生物学和医学的研究。
- 碧云天拥有专业的抗体制备技术人员、完善的抗体生产设备、先进的抗体制备能力，致力于为您提供一流的抗体定制服务。
- 根据客户的需要，碧云天可提供从重组蛋白表达、多肽抗原的设计及合成、免疫动物、多克隆/单克隆抗体制备到抗体纯化、抗体检测、抗体修饰等全方位技术服务。

碧云天抗体定制技术服务

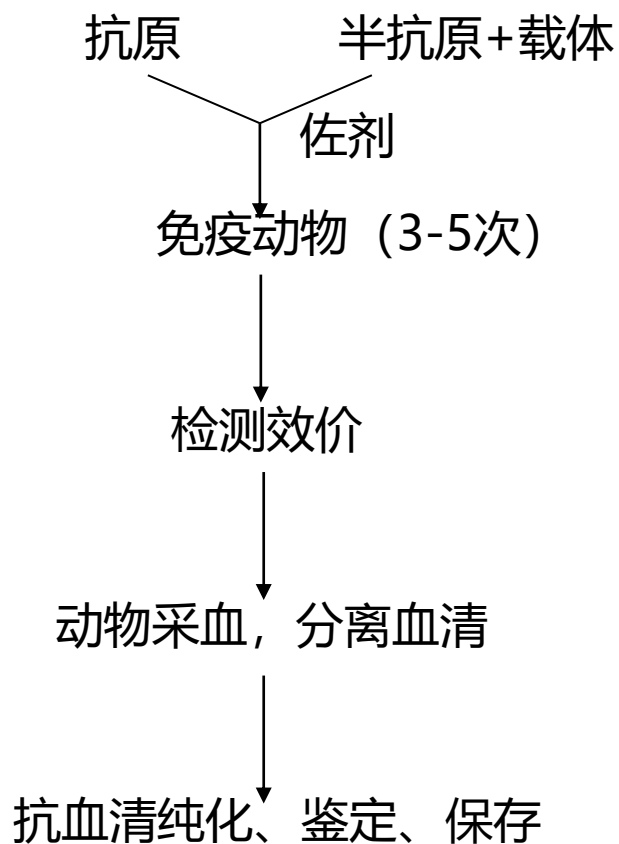
多克隆抗体定制服务

- **多克隆抗体** (Polyclonal antibody) 是由异源抗原(大分子抗原、半抗原偶联物)刺激机体产生免疫反应，由机体浆细胞分泌的一组可识别多个抗原表位、引起免疫反应的球蛋白。因其制备时间短，成本低，被广泛应用于基础研究和医学诊断等领域。
- 多克隆抗体特点：能与多种抗原表位结合，特异性较差，易发生交叉反应，但是检测的灵敏度较好，对于低丰度的蛋白也更容易检出，适合于沉淀、凝集反应的检测性实验。

碧云天抗体定制技术服务

多克隆抗体定制服务

多克隆抗体的制备流程



碧云天抗体定制技术服务

多克隆抗体定制服务

一、抗原的制备

1. 多肽抗原制备：多肽设计，合成与偶联。

2. 蛋白抗原制备：原核或真核表达蛋白。

碧云天抗体定制技术服务

多克隆抗体定制服务

多肽抗原合成

多肽合成后须偶联到载体蛋白（KLH，BSA，OVA），才可以获得高效的抗体。多肽与载体蛋白偶联的方式如下：

- N端氨基偶联到载体蛋白
- C端羧基偶联到载体蛋白
- Cys巯基偶联到载体蛋白

载体蛋白交联基本原则：

- 将载体蛋白加在远离抗体识别区域的一端
- 在序列中没有Cys的情况下在N或C端加上Cys为交联的首选方法

碧云天抗体定制技术服务

多克隆抗体定制服务

重组蛋白抗原制备

- 获取目的基因
- 基因亚克隆至表达载体
- 转化细菌并诱导表达
- 纯化蛋白
- SDS-PAGE、Western blot分析

碧云天抗体定制技术服务

多克隆抗体定制服务

佐剂：与抗原同时或预先注射于机体能增强机体免疫应答或改变免疫类型的物质。

- 增加抗原的表面积，并改变抗原的活性基团构型，从而增强抗原的免疫原性；
- 佐剂与抗原混合能延长抗原在局部组织的存留时间，降低抗原的分解速度，使抗原缓慢释放至淋巴系统中，持续刺激机体产生高滴度的抗体；
- 佐剂可以直接或间接激活免疫活性细胞并使之增生，从而增强了体液免疫；
- 无毒性或副作用低

二、免疫血清的制备

1. 免疫方法

剂量：适量为宜，剂量太大易引起免疫耐受

途径：多用皮内或皮下多点注射（足掌、背部两侧）

腋窝淋巴结直接注射

静脉、腹腔注射

间隔时间：第一次基础免疫（完全佐剂），10-20天后第二次免疫（不完全佐剂），再次间隔7-10天后第三次，总次数5-8次。

碧云天抗体定制技术服务

多克隆抗体定制服务

2. 免疫血清采集、分离及保存

抗体效价检测：在第2次加强免疫后2周，从兔耳缘静脉取2~3ml血，制备血清，检测抗体效价。如未达到预期效价，需再进行加强免疫，直到达到预期水平，即可制备抗血清。

采集：颈动脉放血、心脏采血、静脉采血

分离：室温自然凝固1~2h，然后放4°C冰箱过夜，分离得到血清；有些血清须经56°C30min处理使补体灭活。

保存：4°C保存（3个月-半年）；低温保存（2-3年）；冰冻干燥（4-5年）

三、抗体的纯化和鉴定



抗体鉴定

1. 抗体效价的鉴定：ELISA，双向扩散等
2. 抗体特异性鉴定：用交叉反应率来表示
3. 抗体纯度鉴定：SDS-PAGE电泳鉴定
4. 抗体亲和力鉴定：放射免疫技术测定

四. 多克隆抗体的应用与问题

1. 应用

免疫学检测

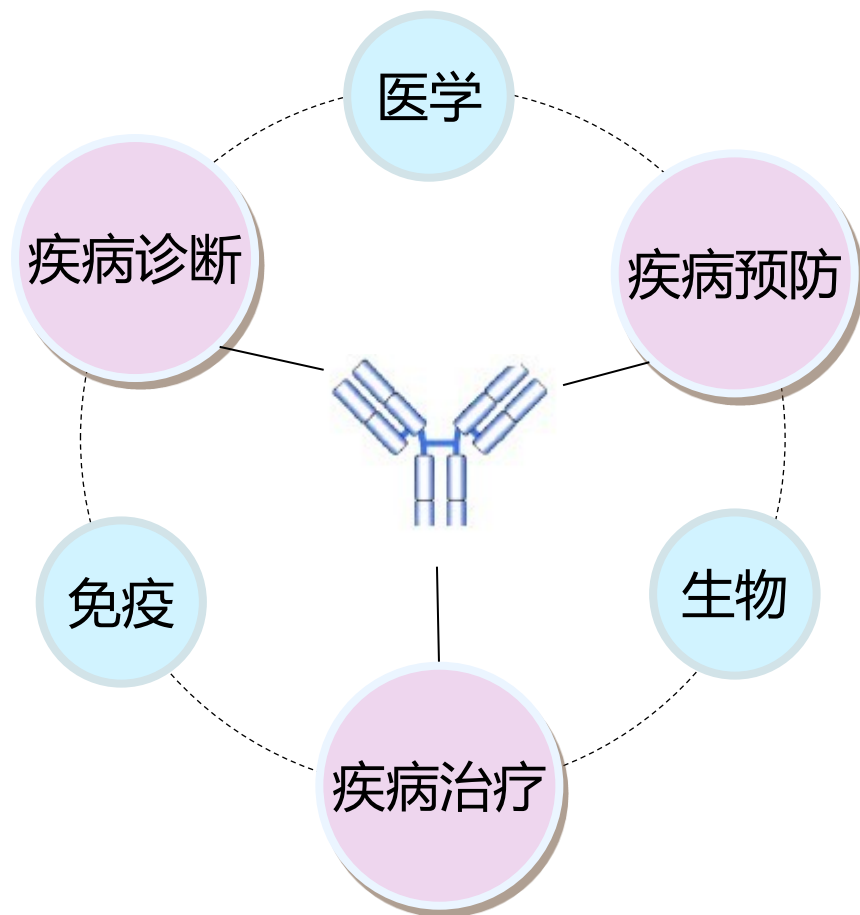
被动免疫治疗和紧急预防

2. 存在问题

特异性差

容易出现交叉反应

单克隆抗体



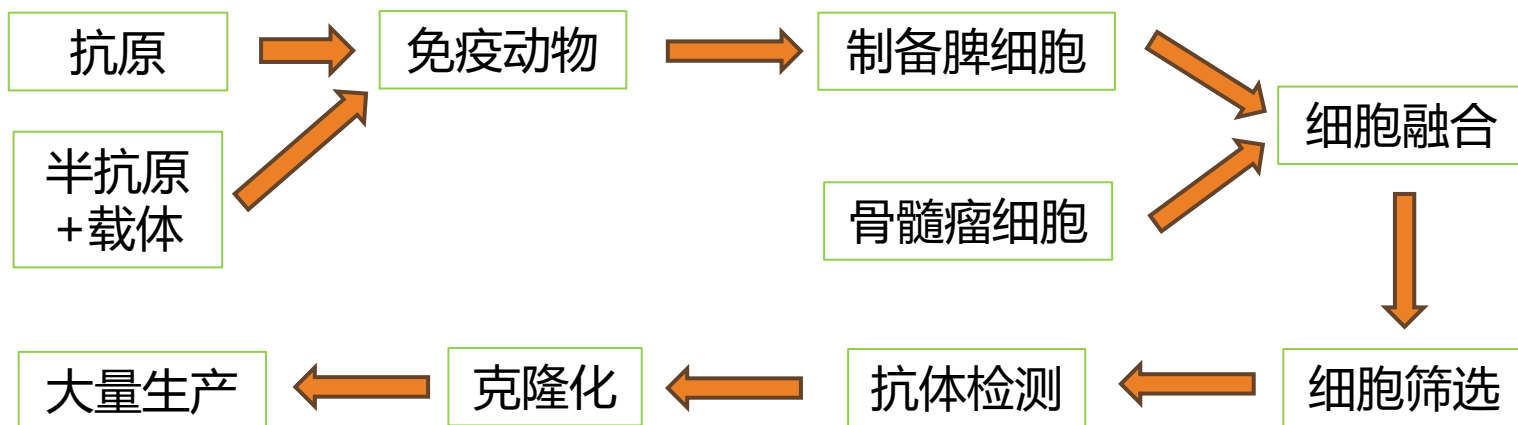
定义：由单一B淋巴细胞克隆产生的高度均一、仅针对某一特定抗原表位的抗体，称为单克隆抗体。

单抗的优势：**特异性、均一性、高效性和无限供应性。**

碧云天抗体定制技术服务

单克隆抗体定制服务

单克隆抗体的制备流程



碧云天抗体定制技术服务

单克隆抗体定制服务

1. 亲本细胞的选择

- ◆ 小鼠骨髓瘤细胞

次黄嘌呤/鸟嘌呤磷酸核苷转移酶(HGPRT)缺陷型

- ◆ 免疫脾细胞 (B细胞)

经抗原免疫的小鼠的脾脏 (抗原制备方法同多克隆抗体制备方法)

碧云天抗体定制技术服务

单克隆抗体定制服务

2. 细胞融合



融合后细胞的类型:

未融合的脾细胞

杂交瘤细胞

未融合的瘤细胞

碧云天抗体定制技术服务

单克隆抗体定制服务

3. 杂交瘤细胞的选择性培养

融合后细胞在HAT培养基中存活情况：

1. 脾细胞 (HGPRT+, TK+, 不能长期生长)

2. 骨髓瘤细胞 (HGPRT-, TK-, 不能生长)

3. 杂交瘤细胞 (HGPRT+, TK+ , 能够生长)

碧云天抗体定制技术服务

单克隆抗体定制服务

4. 杂交瘤细胞的筛选和克隆化

● 筛选：

在用HAT选择培养1~2天内，将有大量瘤细胞死亡，3~4天后瘤细胞消失，杂交瘤细胞形成小集落，HAT选择培养液维持7~10天后换用HT培养液，继续培养2周后，改用一般培养基培养。

● 克隆化：

对于检测抗体阳性的杂交克隆尽早进行克隆化，否则抗体分泌的细胞会被抗体非分泌的细胞所抑制。克隆化的方法主要有：有限稀释法、单个细胞显微操作法、软琼脂培养法

碧云天抗体定制技术服务

单克隆抗体定制服务

5. 单克隆抗体的生产

体外培养

从上清液中获得单克隆抗体。但此方法产量低，一般培养液内抗体含量为10~60 μ g/ml，如果大量生产，费用较高。

体内接种

通过体内接种杂交瘤细胞，制备腹水或血清。

- ①实体瘤法
- ②腹水的制备

碧云天抗体定制技术服务 服务流程

兔多克隆抗体定制服务流程

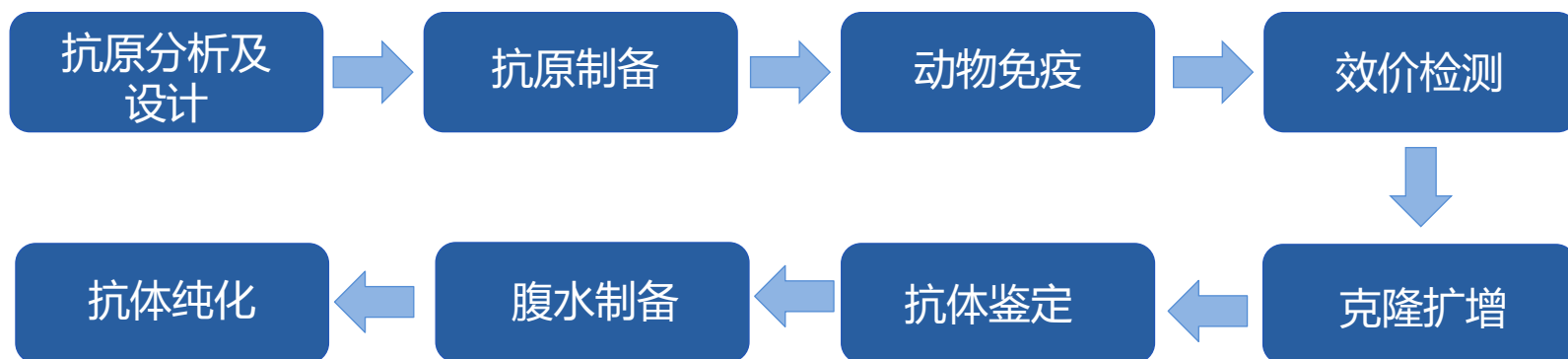


附件 《碧云天兔多克隆抗体定制技术服务询价单》
《碧云天抗体定制服务材料信息表》

碧云天抗体定制技术服务

服务流程

鼠单克隆抗体定制服务流程



附件 《碧云天鼠单克隆抗体定制技术服务询价单》

《碧云天抗体定制服务材料信息表》

碧云天抗体定制技术服务

询价与订购

- 请您下载并填写《碧云天兔多克隆抗体定制技术服务询价单》或《碧云天鼠单克隆抗体定制技术服务询价单》，发送至service@beyotime.com，我们的专业技术人员将在第一时间为您提供准确报价。
- 若有订购意向，碧云天的技术服务人员会与您联系，并签订《碧云天兔多克隆抗体定制技术服务协议书》或《碧云天鼠单克隆抗体定制技术服务协议书》。
- 送样时，请下载并填写《碧云天抗体定制服务材料信息表》，发送至service@beyotime.com或碧云天技术服务人员邮箱。

碧云天抗体定制技术服务

客户须知

➤ 服务说明

- 客户应对所提供的材料及信息负责，如因客户提供的材料及信息不准确而引起的实验延误或经济损失由客户承担。
- 由于免疫抗原的多样性，对于合成困难的多肽和表达困难的蛋白，或免疫原性较差的抗原，双方可商议确制备周期和制备费用。
- 由于动物免疫与多重因素有关，因此制备得到的多克隆抗体具有一定的不确定性，碧云天只对得到的抗体与制备抗体所用的抗原之间的相互结合负责，不对该抗体的其他应用负责。

碧云天抗体定制技术服务

服务承诺

➤ 碧云天抗体定制技术服务承诺

◆ 碧云天兔多克隆抗体定制实验交付：

- ✓ 5ml纯化抗体
- ✓ 剩余血清原液
- ✓ 剩余的抗原
- ✓ 免疫流程报告、检测报告、纯化报告以及ELISA等相关过程报告

◆ 碧云天鼠单克隆抗体定制实验交付：

- ✓ 2个针对免疫原特异性的单克隆杂交瘤细胞株
- ✓ 每个细胞株各提供5mg纯化的抗体，Elisa效价应至少在1:10,000以上；WB内源检测阳性
- ✓ 剩余抗原
- ✓ 提供抗体制备过程的实验记录，如：免疫操作，融合，克隆与检测数据等

Thank You



碧云天
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订购热线: 400-168-3301或800-8283301
技术咨询: info@beyotime.com
技术服务: service@beyotime.com
网址: <http://www.beyotime.com>