



公司简介—公司简介

博奥龙Biodragon是一家由留学归国人员创办的生命科学领域高新技术型企业,专业从事新型生化试剂的研发和销售。公司理念是通过自主创新的品牌产品改变传统实验模式,使生命科学研究变得更轻松、更高效。公司成立以来推出了上万种自主品牌产品,其中包括QuickAntibody™免疫佐剂、QuickShuttle™转染试剂、QuickFreezing™细胞冻存液、QuickVerification™胶体金检测卡、Hybridoma Feeder添加因子和Pan-HPV™ HPV L1抗体等多种独特的自主知识产权产品。秉承"专业、创新"的理念,公司将继续在擅长专业领域做强做大,为客户提供更多的创新产品和服务,力争成为国际知名的品牌生化试剂公司。

公司主要产品有抗体制备全套产品、病毒包装相关产品、2万多种科研用抗原抗体、近300种病理级抗体、几千种重组蛋白,另有WB、IHC、ELISA、细胞培养相关试剂及诸多特色产品和特色技术服务。

关注公众号



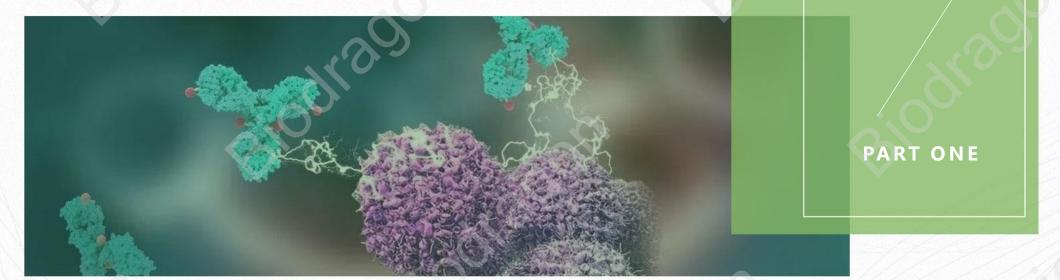




AbBox

单抗和多抗制备概述

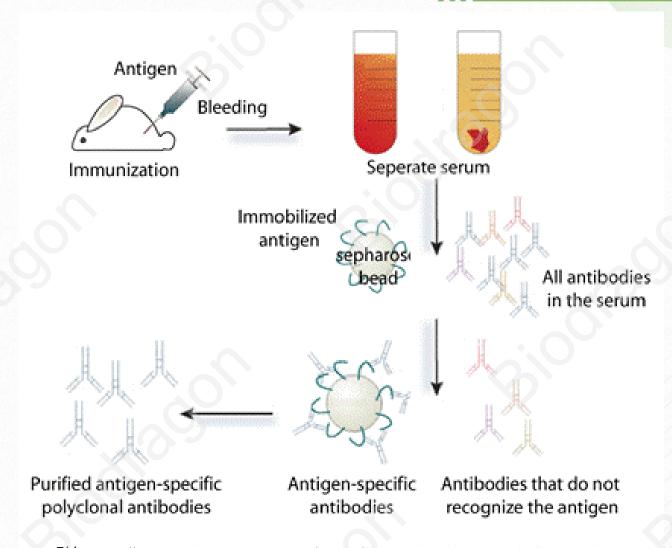






抗体制备流程

> 多克隆抗体直接收集血清获得



引自: https://www.creative-diagnostics.com/images/Polyclonal-vs-Monoclona-Antibodies-2.jpg



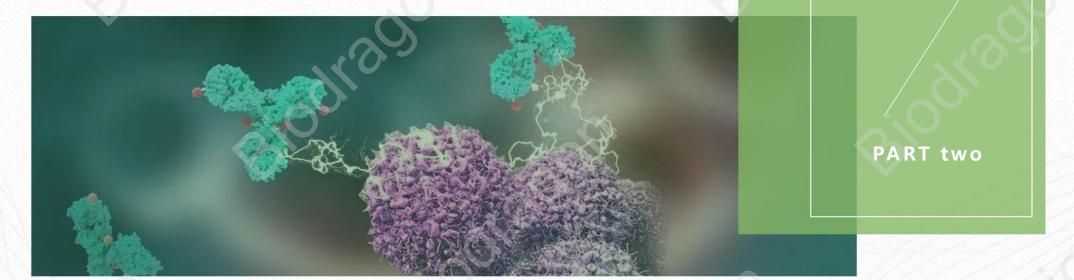
抗体制备流程

▶ 单克隆抗体通常采用杂交瘤技术来制备,杂交瘤 (hybridoma) 抗体技术是在细胞融合技术的基础上, 将具有分泌特异性抗体能力的B细胞和具有无限繁殖能力的骨髓瘤细胞融合为B细胞杂交瘤。



单克隆抗体制备







1.动物免疫

抗原/免疫原:能够刺激机体免疫反应,诱导抗体产生的物质。







单个的珍珠 (氨基酸) 珍珠项链 (多肽链)

珍珠摆件(蛋白质)

抗原	多肽抗原	重组蛋白	天然抗原
特点	12-15个AA组成的多肽 偶联KLH 或BSA增强免疫原性	全长或片段 原核蛋白:大肠杆菌 (E.coli)、枯草芽孢杆菌; 真核蛋白:酵母细胞、昆虫细胞、哺乳动物细胞	亲和纯化天然蛋白 全细胞抗原:细胞、微生物、 病毒
来源	合成	重组表达	提纯
优点	价格低制备周期短纯度高 纯度高有效的提高抗体对抗原某区域的特异性	有多个不同的抗原决定簇,可以获得针对各个抗原决定 簇的抗体 大肠杆菌表达体系,时间短、成本低、产量大 真核表达系统翻译后修饰更完善,更接近天然构象	天然结构, 抗原表位全面, 糖基化修饰表位抗体
缺点	限制了潜在表位的数量 只能识别线性表位	与天然结构仍存在一定差异	

化合物抗原: 重金属、三聚氰胺、黄曲霉毒素、菊酯、抗生素等食品安全、农药残留类物质

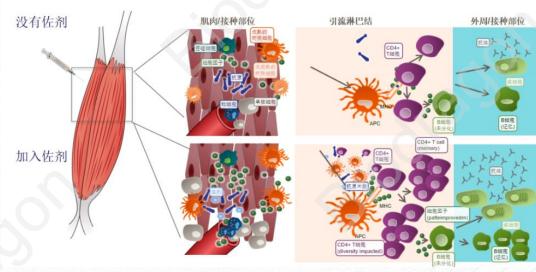


1.动物免疫

可溶性抗原的免疫原性较弱,一般需要加佐剂来提高免疫效果。佐剂又被称为免疫佐剂,是一类先于抗原或与抗原同时注入体内,能够增强或改变机体对抗原免疫应答,发挥辅助作用的物质。

- ▶ 弗氏佐剂-油性佐剂
 - ✓ 弗氏完全佐剂-清亮型
 - ✓ 弗式不完全佐剂-清亮型
- ▶ 铝佐剂: 主要用于人体疫苗
- ➤ QuickAntibody系列-水佐剂
- ▶新型乳剂 (佐剂) #KX0210049-油性佐剂

加入佐剂的疫苗 vs. 未加入佐剂的疫苗



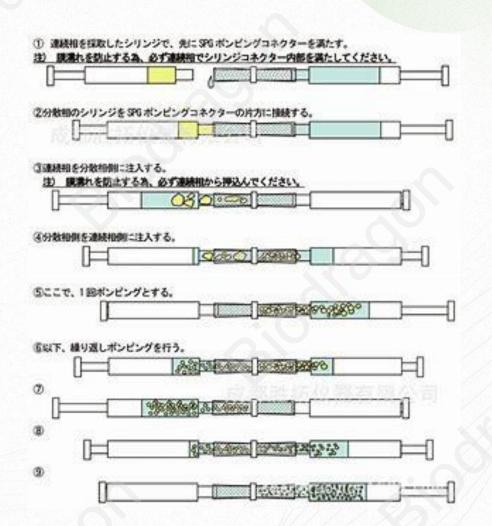
加入佐剂和未加入佐剂的疫苗(图片来自:中国医学论坛报)

➤ Quick CTL细胞免疫佐剂-#KX0210044: 常规佐剂主要诱导B细胞介导的体液免疫,目前市面上很少有商品化的主要由T细胞介导的细胞免疫佐剂。



弗氏佐剂

- 目前在免疫动物制备抗体的过程中,应用最为广泛的就是弗氏佐剂。
- 弗氏佐剂是一种经典的油包水型佐剂,该佐剂是由矿物油(石蜡油)、乳化剂(羊毛脂)和杀死的分枝杆菌或卡介苗组成。若三种成分都有,则称为完全佐剂,若无分枝杆菌或卡介苗则被称为弗氏不完全佐剂。
- 免疫时将弗氏佐剂与抗原等体积混合,完全乳化形成油包水结构后即可用于免疫注射。使用弗氏佐剂进行免疫的方法又称传统免疫法。



佐剂乳化器











QuickAntibody系列水佐剂



- QuickAntibody系列免疫佐剂是由**博奥龙研发**的一类具有自主知识产权的、独特配方的新型免疫佐剂。
- 自2012年上市以来,已经被无数科研及工业客户所使用和认可,现已收集到**发表文献200多篇**。
- QuickAntibody系列免疫佐剂以其独特优势,给客户带来极大便利和成本的节省,已成为IVD 行业与抗体药物行业首选佐剂。

产品名称	货号	规格	免疫周期	特点	用途	预期滴度
QuickAntibody -Mouse5W	KX0210041	1ml	5周	标准免疫	小鼠单抗 小鼠多抗	1:10000- 1:10000000
QuickAntibody -Mouse3W	KX0210042	1ml	3周	快速免疫	小鼠单抗 小鼠多抗	1:10000- 1:100000
QuickAntibody -Mouse2W	KX0210043	1ml	2周	快速免疫	小鼠多抗	1:1000- 1:10000
QuickAntibody -Rabbit8W	KX0210045	1ml	8周	标准免疫	兔多抗	1:10000- 1:1000000



QuickAntibody佐剂优势



对比	QuickAntibody佐剂	弗式佐剂	给客户带来便利
是否需要乳化	无需乳化,仅枪头吹打2下	30min-1hr乳化时间	节省30min繁琐乳化过程
免疫方式	肌肉一针或皮下1-2点	皮下多点或腹腔	使免疫变得更简单
全部免疫时间	2-5周	8-12周	节省1-2个月免疫时间
免疫次数	鼠佐剂2次,兔佐剂3次	3-5次	节约免疫次数
抗原用量	小鼠5-20ug/针 兔子20-50ug/针	小鼠50-100ug/针 兔子100-1mg/针	极大节约抗原用量
是否破坏抗原构象	不破坏抗原构象	乳化破坏抗原构象	更易获得针对蛋白 <mark>构象表位</mark> 的抗体
自身是否产生抗体	不含免疫原成分	含有免疫原成分	单抗阳性克隆率更高
毒性	无毒,对动物无伤害	有毒,对动物伤害大	<mark>降低动物死亡率</mark> ,更符合动物福利



抗血清效价检测

- 免疫鼠尾尖血或眼静脉丛采血100~ 200µL
- 间接ELISA法检测
- 结果分析:

检测的数值/阴性对照≥2.5, 检测数据OD 大于0.2, 初步判定为阳性

根据ELISA结果选择血清抗体效价较高的 1~2只小鼠 (如mouse 5, 滴度>1280K) 于融合实验前3天进行冲击免疫

QuickAntibody mouse 5W免疫佐剂 免疫血清效价





2.杂交瘤细胞融合

- 细胞融合(Cell fusion)或细胞杂交(cell hybridization),是指真核细胞通过介导和培养,两个或多个细胞合并成一个双核或多核细胞的过程。
- 目前, 诱导细胞融合的**方法**有三种:病毒、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)和电激。 PEG介导的动物细胞融合在单克隆抗体的制备中应用最为广泛。

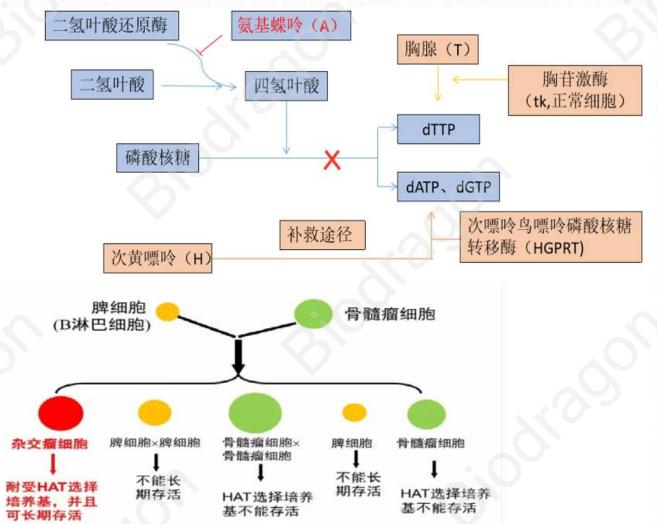




细胞融合主要试剂

货号	名称	规格	用途
BF08003	50%PEG1450即用型溶液	50ml/5×1ml	专业用于杂交瘤细胞的制备
BDXB-0001	SP2/0 小鼠骨髓瘤细胞	瓶	专业用于杂交瘤细胞的制备
BF08001	HAT选择性培养基 50X	10ml/100ml	作为筛选培养基添加剂,用于筛选融合 成功的细胞株
BF08002	HT选择性培养基 50X	10ml/100ml	融合后的杂交瘤细胞仍很脆弱,建议使 用含HT的培养基继续培养
CM-2001	Hybridoma Feeder添加因子	10ml/100ml	完美替代饲养层细胞,建立sop
CM-2002	Hybridoma Feeder PF (Protein Free)	2.5mg (可配置500ml培养基)	大幅提升细胞存活率,无蛋白
BF08005	杂交瘤专用胎牛血清	100ml	再也不用担心血清批间差啦!

融合筛选原理



- H—Hypoxanthine次黄嘌呤
- A—Aminopterin氨基喋呤
- T—Thymidine 胸腺嘧啶核苷
- 只有脾细胞:可以合成DNA,但不具有无限增殖能力
- 只有SP2/0细胞: DNA合成受A抑制, 丧失 无限增殖能力

DNA两个合成途径:

✓ 起始合成途径: 受氨基蝶呤抑制

✓ 中间合成途径: SP2/0为HGPRT

缺陷型细胞株

(>≤) B细胞+ SP2/0细胞: 互利共生

饲养细胞的用途

用途:在体外培养细胞实验中,对于<u>难养的细胞</u>或者<u>数量较少的细胞</u>,常常需要预先在培养瓶或培养板底部加入一些活的原代细胞或者静息的肿瘤细胞以<mark>辅助目的细胞的生长</mark>,这就是**饲养层细胞**。原理:一种解释是饲养层细胞可以减小培养瓶或培养板对细胞的毒害作用;另一种解释是饲养层细胞可以释放出一些必要的生长因子,可以促进目的细胞的生长。



Hybridoma Feeder 添加因子是一种适应性培养基,可用于单克隆抗体制备过程中,例如杂交瘤细胞的融合、亚克隆以及新复苏细胞的培养等,具有明显的促进杂交瘤细胞生长的能力,CM2001可替代常规的饲养细胞



Hybridoma Feeder产品优势

常规饲养细胞

- 常规饲养细胞获得方式通过小鼠腹腔取巨噬细胞或直接使用小鼠脾脏细胞。
- 常规饲养细胞获取缺点
 - ▶容易污染
 - > 同一个人取不同小鼠饲养细胞的效果不同
 - ▶ 不同人取同一个小鼠饲养细胞的效果不同
 - ▶ 不能建立标准作业程序 (SOP)
 - >需要处死小鼠,不符合动物福利

Hybridoma Feeder 杂交瘤细胞添加因子

- CM2001可完全代替饲养细胞,避免污染,减少工作步骤,建立公司SOP;
- 用于新融合细胞,可使克隆集落增多、增大;
- 杂交瘤亚克隆时,可以提高亚克隆效率;
- 可以提高杂交瘤细胞的生长速度;
- 对于新复苏细胞,可以很快改善细胞生长状态;
- Hybridoma PF, 纯化学配方, 无血清、无蛋白, 不会有任何支原体污染。



3.杂交瘤细胞亚克隆化

在HAT培养基中生长的杂交瘤细胞,只有少数是分泌预定特异性单克隆抗体的细胞,因此,必须对检测抗体阳性的孔尽早进行筛选和多次克隆化,选育出遗传稳定的同源细胞系:

1. 有限稀释法

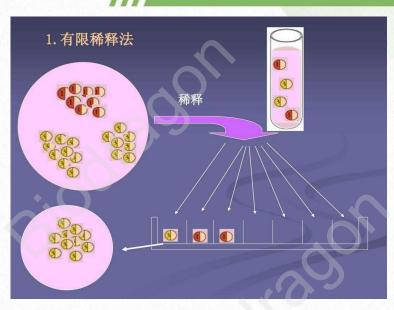
2. 半固体培养基:

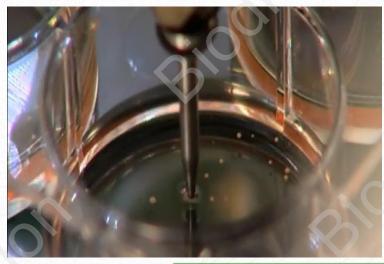
➤ 成分: HAT,胎牛血清, Hybridoma Feeder 添加因子, 细胞用抗生素,甲基纤维素,由 DMEM/1640 基础培 养基配制而成

▶ 优势:

- > 减少克隆化次数
- ▶ 相比液体培养方法,单个细胞株之间生长空间相对独立,减少非目标融合细胞过度生长,导致的分泌抗体细胞的丢失

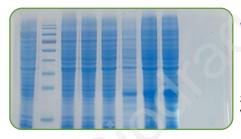
1	货号	名称	规格	价格
-	BTYA0606	半固体培养基(DMEM高糖)	90ml	1000
1	BTYA0607	半固体培养基(1640)	90ml	1000



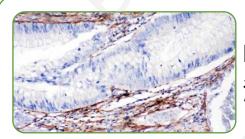




3.杂交瘤细胞亚克隆化



WB检测相关产品:增强型ECL发光液、QuickBlue快速染胶液、多表位标签蛋白 (阳性对照)、沉淀型TMB单组份、抗体稀释液、HRP标记物稀释液、AP标记物稀释液、荧光抗体稀释液、HRP山羊源抗体专用稀释液、BCA蛋白定量试剂盒等



IHC检测相关产品:免疫组化通用试剂盒、苏木精染液、AEC显色液、pNPP显色液、IHC专用抗体稀释液、内源性过氧化物酶/碱性磷酸酶阻断剂等



ELISA检测相关产品:可溶型TMB单组分、ELISA通用试剂盒、酪胺信号放大试剂盒、酶标板干燥稳定剂、ELISA专用各种缓冲液等



4. 细胞冻存

用途:

细胞冻存是生物实验中经常使用的方式,也是<mark>细胞保存</mark>的主要方法之一。连续培养的细胞系容易发生遗传突变,<u>已经建立好的特定细胞系</u>对研究人员来说是非常宝贵的,还有对于<u>来不及筛选的阳性杂交瘤细胞</u>等等,细胞的冻存存储都是十分必要的。

我们的产品:

- ➤ QuickFreezing-M 哺乳动物细胞冻存液
- ➤ QuickFreezing-2×M 哺乳动物细胞冻存液
- ➤ QuickFreezing-I 昆虫细胞冻存液 SF9、SF21、High5

销售规格: 30ml, 100ml





细胞冻存方法介绍

常规细胞冻存方法

1. 冻存液: DMEM+二甲基亚砜 (DMSO) +胎 牛血清等。血清成分,存在微生物污染风险, 且批次不稳定

2. 冻存方式:

- ▶ 手动梯度降温方式,操作步骤多,耗时耗力: 4 度冰箱2-3小时,-20度冰箱3-5小时,-80度冰 箱过夜,第二天转入液氮。
- ▶ 程序性降温盒价格高,占用-80℃冰箱空间,且一般含有异丙醇,难清理:使用程序性降温盒,直接放入-80度冰箱过夜,第二天转入液氮。市场主流为:
 - · Nalgene程序性降温盒,需要加入异丙醇
 - · Corning程序性降温盒,无需加入异丙醇

QuickFreezing 细胞冻存液特点

- 冻存液: DMEM+DMSO+自主知识产权的独特配方,不含牛血清或其他蛋白成分。无血清、 无蛋白,化学成份明确,批次稳定
- 冻存方式:
 - ➤ 无需繁琐耗时的程序性降温,可以直接放于 -80°C冰箱,可长期保存。用于保种仍建议转移 到液氮
 - ▶ 2*哺乳动物细胞冻存液,细胞可以96孔板直接 冻存:如阳性克隆珠来不及筛选



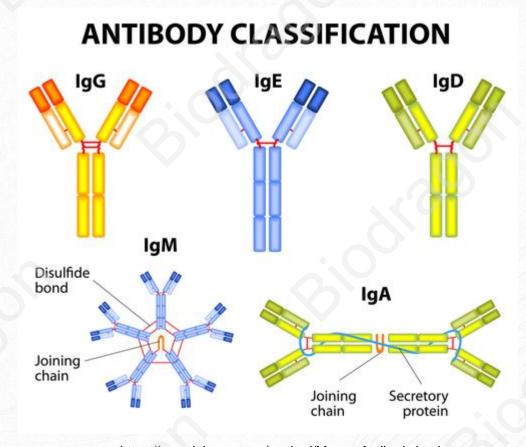
5.腹水制备

- 单抗腹水制备佐剂-#KX0210048
 - ▶ 用途:是一种预先注入机体内,能增强机体对抗原的免疫 应答能力或改变免疫应答类型的辅助物质。专用于小鼠腹 水的制备。
 - ▶ 优势:在小鼠腹腔内接种杂交瘤细胞前,注射本佐剂到腹腔内,在腹水效价不变得前提下,可以有效增加腹水量(1.5-2倍)和提高腹水制备成功率。



6.抗体亚型鉴定

Species	Isotypes		
mouse	•lgA、lgD、lgE、lgM •lgG1, lgG2a/lgG2c, lgG2b, lgG3		
Norwegian rat	•lgA、lgD、lgE、lgM •lgG1, lgG2a, lgG2b, lgG2c		
IgA1, IgA2humanIgD、IgE、IgMIgG1, IgG2, IgG3, IgG4			
rabbit	•lgA1, lgA2, lgA3, •lgE、lgM •lgG		
goat	•lgA、lgD、lgE、lgM •lgG1, lgG2		
chicken	•lgY		





抗体亚类鉴定试剂

货号	名称	规格
BF06002	小鼠单抗Ig类亚类鉴定用酶标二抗 <mark>即用套装</mark> (G1\G2a\G2b\G3\M\A)	6×50ml/6×15ml
BF16002	小鼠单抗Ig类亚类鉴定用酶标二抗 <mark>即用套装</mark> (含轻链) (G1\G2a\G2b\G3\M\A\Kappa\Lambda)	8×50ml/8×15ml
BF06001	小鼠单抗Ig类/亚类鉴定用ELISA <mark>试剂盒</mark> (IgG1\IgG2a\IgG2b\IgG3\IgM\IgA)	套
BF16001	小鼠单抗Ig类/亚类鉴定用ELISA试剂盒(含轻链) (IgG1\lgG2a\lgG2b\lgG3\ IgM\lgA\Kappa\Lambda)	套
BF06211	人单抗亚型Ig类/亚类鉴定用酶标二抗 <mark>浓缩套装</mark> (G1\G2\G3\G4\M\A)	6×100µl

✓即用套装:只有预稀释好的二抗,无需稀释,可以直接使用;可以检测500个样品 or 150个样品

✓Elisa试剂盒:所有原料以及96孔板均已准备好,只需准备样本即可,2×96T包装,适合新于或经费充足的工业及科研客户



7.抗原抗体纯化

蛋白纯化

- Ni层析介质: His标签蛋白纯化;
- 谷胱甘肽层析介质: GST标签蛋白纯化;
- Flag标签亲和层析介质: Flag标签蛋白纯化;
- Streptavidin高速层析介质: Biotin标签蛋 白纯化;
- Dextrin蛋白纯化层析介质: MBP标签蛋白 纯化

抗体亲和纯化

- 蛋白A层析介质
- 蛋白G层析介质
- 蛋白L层析介质
- 多种预活化层析介质(抗原偶联专用):用于 含氨基、巯基或羟基的蛋白和样品的偶联, 制备成特殊的亲和介质,快速有效地从复杂 体系中一步纯化相应的物质。
- 单抗腹水纯化试剂盒
 - 小鼠IgG1、IgG2亚类单抗纯化试剂盒(仅支 持腹水)
 - 小鼠IgG3亚类单抗纯化试剂盒 (仅支持腹水)



抗原抗体纯化试剂畅销产品

- 抗原抗体纯化填料分为: 瓶装、中压预装柱、重力预装柱
- 小量纯化选择: 重力预装柱套装, 试剂盒提供1根填装3ml蛋白G层析介质的重力 预装柱, 2瓶100ml的结合/洗杂Buffer和1瓶100ml的洗脱Buffer。不需要再进 行填料填装和缓冲液配制。

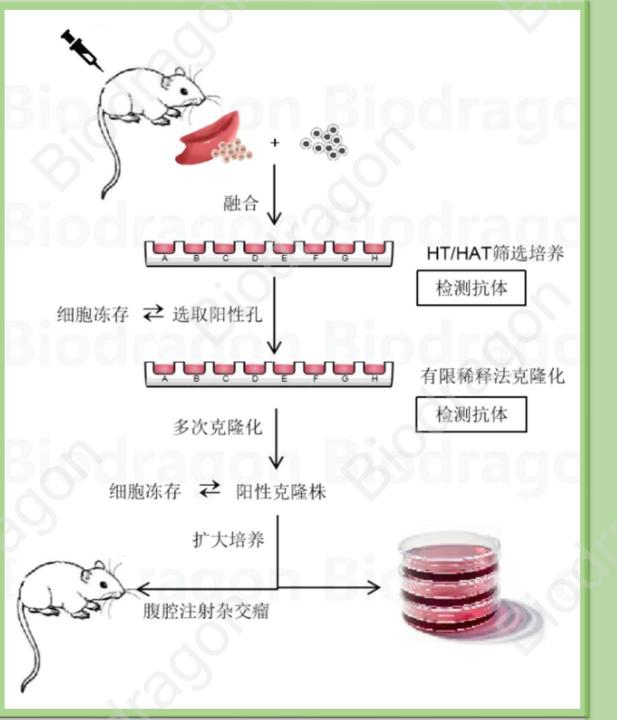
货号	名称	填料 价格		
BDTL0011-K	Ni层析介质(NTA)重力预装柱套装(His标签专用) HisPur Ni NTA Kit	3ml	1360.00	
BDTL0007-K	重力预装柱套装(GST标签专用) GSTPur Glutathione Kit	3ml	1360.00	
BDTL0001-K	蛋白A重力预装柱套装 AbPur rProtein A Kit	3ml	1360.00	
BDTL0003-K	蛋白G重力预装柱套装 AbPur rProtein G Kit	3ml	1360.00	





8.抗体/蛋白标记试剂

- HRP标记试剂盒
- FITC标记试剂盒
- 生物素标记试剂盒
- 超级生物素标记试剂盒
- 预装脱盐柱:用于蛋白质缓冲液的置换,如盐析法纯化抗体实验中用于去除硫酸 铵



- 1. 动物免疫: 免疫佐剂、佐剂乳化器
- 2. 杂交瘤融合:
 - > PEG1450
 - > SP2/0细胞株
 - > 杂交瘤添加因子
 - > 杂交瘤专用胎牛血清
 - ➤ HAT添加剂/HT添加剂
- 3. 杂交瘤细胞克隆化
 - > 半固体培养基
 - ➤ WB检测相关产品
 - ▶ IHC检测相关产品
 - > ELISA检测相关产品
- 4. 无血清细胞冻存液
- 5. 腹水专用佐剂
- 6. 抗体亚类鉴定试剂
- 7. 抗体制备: 抗原/抗体纯化试剂
- 8. 抗体/蛋白标记试剂



细笔环管





我们细胞冻存液的英文名称是什么?



添加微信 领取奖品 咨询产品信息 获得技术支持

相关问题答疑





有没有详细的Protocol?







博奥龙龙宝博士

3.3号 周五 09:00-11:00 bilibili 慢直播

带大家一起浏览我们的《抗体制备实验手册》



你感兴趣的视频都在B站

保存图片 打开哔哩哔哩APP 扫码查看UP主



分享于2023-02-17 15:1



免疫周期可以缩短吗?

- 可以,但是周期越短,IgG抗体滴度 越低
- 首次免疫后,一般在10-15d 左右抗 体的产量会达到一个峰值,但是此时 抗体亲和力不够,大部分都是IGM, 因此需要进行加强免疫,加强免疫一 般在首次免疫后三至四周进行。第二 次、第三次加强免疫间隔可以缩短至 2-3 周。这个时间不太能长也不能太 短,太短起不到加强的效果,而且还 容易引起免疫耐受,如果相隔太久, 则前面的免疫将失去初步刺激的效果。 如果是采用脾内免疫,则可以在一定 程序上缩短免疫周期。

产品名称	货号	第一针	第二针	第三针	第四针	采血测效价
QuickAntibody -Mouse5W	KX021004 1	0天	21天 (3W)	\		30-35天 (5W)
QuickAntibody -Mouse3W	KX021004 2	0天	14天 (2W)	\		21天 (3W)
QuickAntibody -Mouse2W	KX021004 3	0天	\	1		14天 (2W)
QuickAntibody -Rabbit8W	KX021004 5	0天	21天 (3W)	42天 (6W)		52-56天 (8W)
弗氏完全佐剂	KX021004 6Q	0天	21天 (3W)	35天 (5W)	49天 (7W)	63天 (9W)



细胞融合率低,杂交瘤少

- 一个融合预计可获得~1000个克隆,如果融合率低,可查看以下影响因素:
- **SP2/0生长或繁殖能力差**:如果骨髓瘤细胞没有充分适应培养基,或者复苏后过早使用,可能会发生生长不良。如果骨髓瘤细胞在融合当天密度过高,杂交瘤存活率也可能降低。
- **支原体污染**:使用支原体检测试剂盒确认。初期轻度的支原体污染并不影响细胞的生长和增殖,显微镜下是很难发现,容易被忽视;但一旦支原体污染爆发后,能观察到大量细胞碎片
- **融合前脾脏细胞活力差**:造成这一问题的原因可能有很多,包括免疫小鼠的年龄和健康状况,以及脾脏采集和融合之间的时间间隔。建议在分离脾细胞后尽快(最好在1小时内)进行融合。骨髓瘤细胞也应在收获后尽快使用。
- **融合细胞生存能力差**:新融合的细胞是脆弱的,建议添加饲养细胞,甚至Hybridoma feeder添加因子。应避免温度急剧变化和剧烈移液,因为这可能导致质膜破裂和细胞死亡。
- PEG的使用不正确:
 - 融合前未有效地从细胞中去除血清,杂蛋白将影响PEG的融合效率。
 - 浓度低: 脾细胞/骨髓瘤细胞混合物离心后上清液尽量去除干净, 避免稀释PEG
 - 轻拍管底,充分打散细胞沉淀后,再添加PEG
 - PEG处理时间太长导致细胞死亡



阳性克隆率低

融合率正常,但是阳性细胞太少的情况,可参考查阅如下信息:

- 抗原剂量过低或免疫原性低:通常建议接种20 100μg纯化抗原。最佳剂量和免疫原性取决于所使用的抗原类型,只能凭经验确定。QuickAntibody系列免疫佐剂有助于节约抗原用量。
- 免疫周期太短:导致融合时特异性抗体形成细胞太少。最佳免疫方案取决于抗原的类型和 剂量以及所需的特异性抗体的亲和力。一般来说,注射间隔时间越长,产生的抗体亲和力 越高。更多信息,请参考"免疫周期可以缩短吗?"信息。
- **筛选方式不合适**: 筛选试验应针对特异性结合感兴趣的抗原的抗体。筛选用抗原可能被降解,不是天然构象,或者被阻断,从而影响了检测结合目标抗原的抗体的能力。





- 克隆时**杂交瘤的生存能力差或生长速度低**:继续加入饲养细胞或Hybridoma Feeder添加 因子
- 细胞固有的遗传不稳定性可能导致克隆后获得很少的生长或表达杂交瘤:如果阳性克隆仍然可以识别,立即亚克隆杂交瘤,以保持细胞系的稳定性和克隆性。
- 操作不规范: 为了获得最佳的克隆效率,克隆前细胞应处于对数生长期,并具有> 90%的活力。



