

Fortebio Octet 实验 FAQ

相关服务：[Fortebio 相互作用检测服务](#)

常用术语解释

BLI：生物膜干涉技术

K_a/K_{on} ：结合常数，单位 $M^{-1}s^{-1}$ ，代表了单位时间内产物生成速率；

K_d/K_{off} ：解离常数，单位 s^{-1} ，单位时间内产物降解成反应物的百分比；

K_D ：亲和力常数，单位 M ，代表了亲和作用的强弱；



如何根据 K_D 值判断亲和力的强弱？

不同反应的“强”“弱”的标准：

- 对于小分子而言 ($<2KD$)：亲和力在 10^{-4} - $10^{-7}M$ ，如果 $KD < 100nm$ ($10^{-7}M$)，那么这种小分子的结合能力就比较强。
- 对于蛋白而言 (如抗原抗体反应)：亲和力在 10^{-8} - $10^{-11}M$ ，如果 $KD > 100nm$ ($10^{-7}M$)，那么这种小分子的结合能力就比较弱。

动力学和亲和力有什么差别？

动力学是通过实时的结合解离曲线计算得到解离常数和结合常数来更细致的描述相互作用。一般只能通过实时监测的技术获得，比如 BLI。亲和力是描述反应强弱，基于终点技术的很多方法可以获得，比如 ELISA。动力学包含了亲和力，但是亲和力不包含动力学。

动力学测试中对样品的浓度要求是什么？

如果需要获得 KD 值，必须要知道分析物的浓度。 KD 值越大，需要的分析物的测试浓度越大。

BLI 可以测试的生物分子的范围。

小到 150 Da 的化合物，大到病毒，以及多肽，蛋白质，DNA/RNA，多糖，多聚物，脂质体，纳米颗粒等均在 BLI 的可测试范围。

BLI 方法和传统的免疫共沉淀，酵母双杂交方法相比，优势在哪里？

- 精细的定量化分析，并获得动力学参数以获得更多的生物学信息；
- 快速，只需要 10 – 20 分钟就对相互作用进行判定；
- 非标记，非变性检测，更能真实的反应情况

固化蛋白一定要纯化吗？

如果是 SA，SAX，SSA，AR2G，APS 传感器，固化蛋白一定要纯化。如果是基于 capture 类传感器，固化蛋白不一定需要纯化。但是固化纯化的物质可以减轻杂质带来的影响。

BLI 信号和什么有关？

信号和结合上去的分子的大小和密度有关。对不同物质来说，分子越大，信号越高。对同一种物质来说，结合越多，信号越高，结合量和信号呈正比。

BLI 可以测试的生物分子的范围。

小到 150 Da 的化合物，大到病毒，以及多肽，蛋白质，DNA/RNA，多糖，多聚物，脂质体，纳米颗粒等均在 BLI 的可测试范围。

生物素化需要注意一些什么？

生物素试剂与蛋白的摩尔比在 1:1 – 3:1 之间。目前使用最多的是氨基偶联的生物素化试剂，所以待生物素化的物质溶液中除了需要生物素化的物质外，不得含有其他带有氨基的保护剂以及缓冲液（特别是 Tris 缓冲液）。生物素化完成后需要脱盐除去未反应生物素化试剂。

更多优质服务推荐



SingleB® mAb Discovery Service

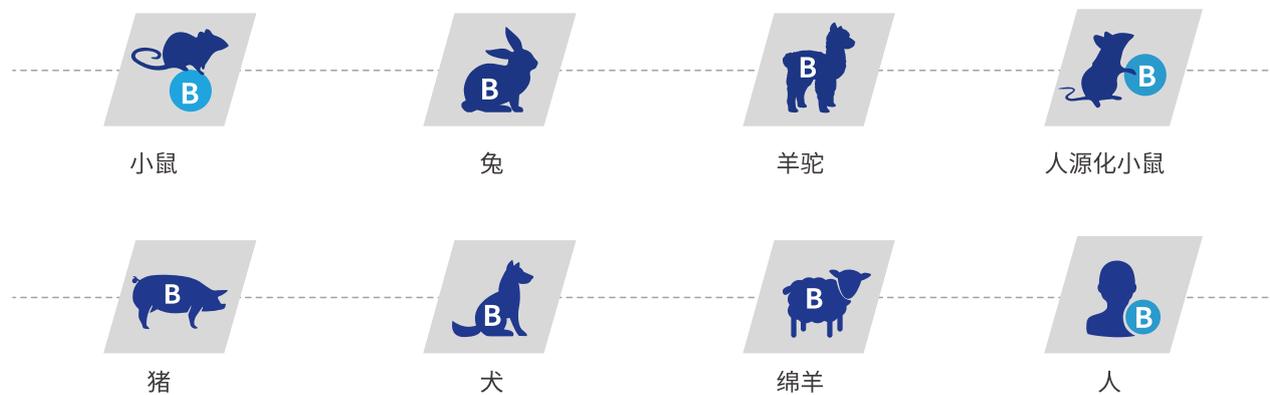
SingleB® 单B细胞快速单抗发现

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。

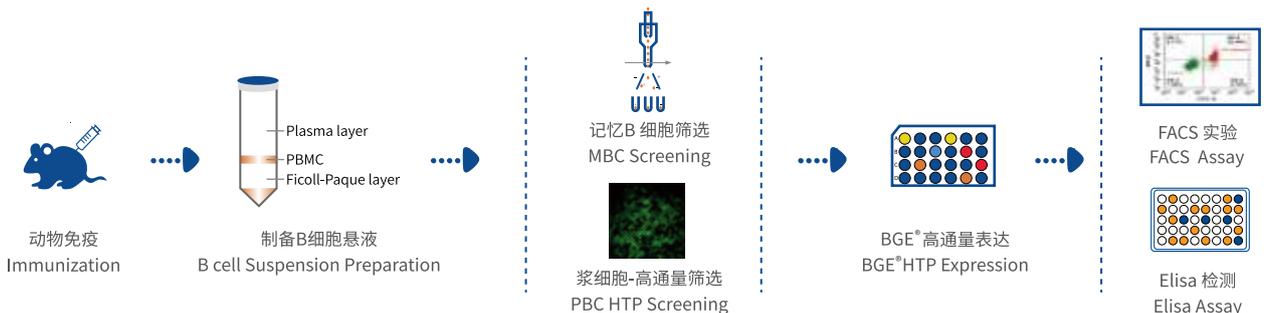
平台优势

- 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、(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

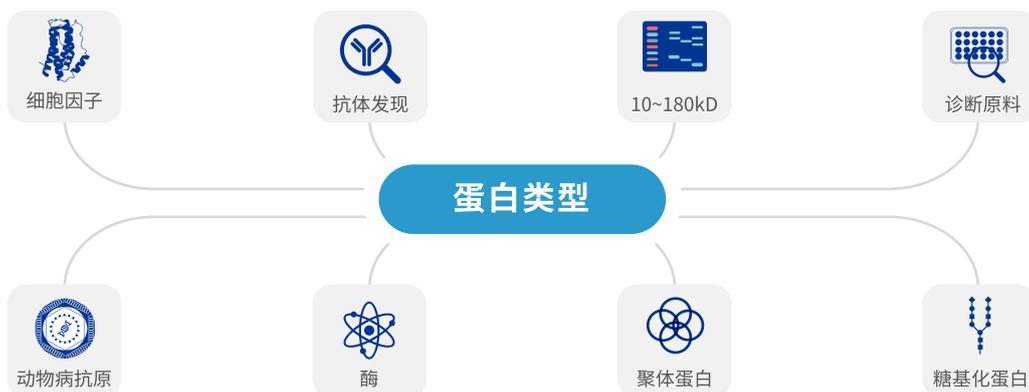


Recombinant Protein Expression Service

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。

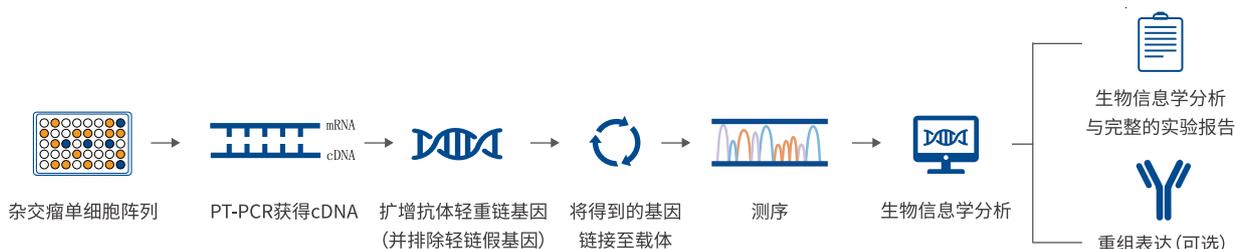
应用场景

- 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



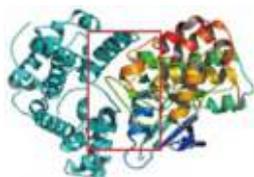
5

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。

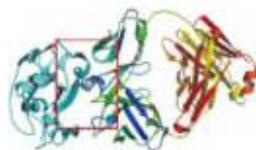
检测范围



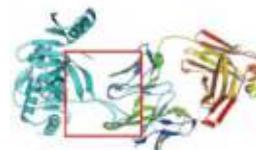
蛋白和蛋白



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。

6

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

7

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



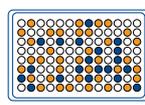
基因合成&质粒抽提



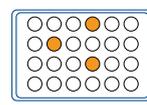
稳定转染



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