

钟鼎生物  
ZOONBIO BIOTECHNOLOGY

# 单克隆抗体制备服务

## 基于小鼠杂交瘤细胞

单克隆抗体测序  
抗体亲和力检测  
单抗重组表达



公司名称：南京钟鼎生物技术有限公司  
分子生物学技术服务 025-84448440-601  
基因工程操作技术服务 025-84448440-608  
免疫学检测技术服务 025-84448440-602  
项目合作 025-84448440-601  
传真：025-84448440-609

免费热线：400-025-1124  
抗体制备技术服务 025-84448440-611  
蛋白表达技术服务 025-84448440-608  
蛋白质解析服务 025-84448440-608  
行政外联 025-84448440-606

邮箱：order@zoonbio.com 公司网址：www.zoonbio.com

联系地址：江苏省南京市玄武区孝陵卫双拜巷78号钟山生命科技园9座2楼（邮编 210014）

# 定制单抗 还是多抗呢？



抗体是一种由浆细胞（效应B细胞）分泌，被免疫系统用来鉴别与中和外来物质如细菌、病毒等的大型Y形蛋白质，仅被发现存在于脊椎动物的血液等体液中，及其B细胞的细胞膜表面。抗体能识别特定外来物的一个独特特征，该外来目标被称为抗原。

抗原上可以引起机体产生抗体的分子结构叫做抗原决定簇，也称为抗原表位。一个抗原可以有許多不同的抗原决定簇，因此，机体也可以产生多种不同的抗体。

**如字面理解，多抗就是比单抗多！**

由单一B细胞克隆产生的高度均一、仅识别某一特定抗原表位的抗体，称为单克隆抗体（单抗）。而由多个B淋巴细胞克隆产生的，受到多种抗原决定簇刺激并可以与多种抗原表位结合的抗体就是多克隆抗体（多抗）。从某种角度而言，多抗是多种单抗的混合物。

**单抗的生产流程比多抗复杂**

制备多克隆抗体只需将抗原（蛋白/偶联多肽/全菌/灭活病毒等）直接注入到动物体内进行免疫，经过3-4次免疫，ELISA测其效价合格后，收集血液离心得到上清，纯化后即能得到多克隆抗体。

而单抗的流程要复杂很多，需要在多抗的实验基础上，分离免疫后动物的B淋巴细胞，将其融合骨髓瘤细胞而获得杂交瘤细胞，经过有限稀释法培养筛选、ELISA检测后就得到阳性克隆株，最后进行细胞培养或将细胞株注入到动物（一般为balb/c小鼠）腹腔中，收集上清腹水纯化后就能得到单克隆抗体。

**单多抗在应用上有各自的优缺点**

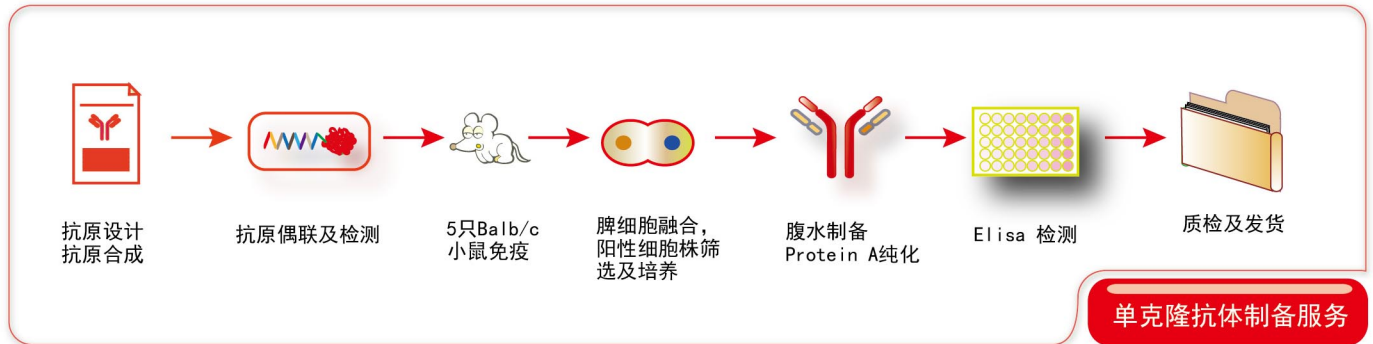
多抗的特异性较差，即使是使用相同的抗原制备多抗，不同批次间也会存在差异，因而在特异性、一致性方面有很大的局限。所以在用多抗做免疫检测时，背景干扰问题突出，例如在WB中有杂带，在IHC中背景较深等等。但由于多抗识别多个抗原表位，即使是有少数几个抗原表位被破坏或者抗原构象改变，实验的结果也不会受到影响。

单克隆抗体的特异性高，获得单抗细胞株后可以持续生产完全一致的单克隆抗体，因此可以对其特异性进行全面、系统地验证。但如果所识别的抗原表位被破坏，实验的结果将会受到很大的影响。

## 单克隆抗体制备服务

单克隆抗体即把产生抗体的B淋巴细胞与多发性骨髓瘤细胞进行融合，形成杂交瘤细胞。既有骨髓瘤细胞无限生长的能力，又有B淋巴细胞产生抗体的功能。能在细胞培养中产生大量单一类型的高纯度抗体。单克隆抗体技术的应用，是免疫学中的一次革命，与常规的多克隆抗体相比，特异性更强，灵敏度更高，并且便于大规模重复生产，优越性非常明显。目前已广泛应用于科研、检测、医药等各个领域。

钟鼎生物技术除了能够提供常规的蛋白、多肽抗原的单克隆抗体制备外，我们特别擅长小分子抗原的单克隆抗体制备，对于农药、小分子、重金属抗原的偶联和免疫，我们具有丰富经验，可以快速帮助客户解决难题。此外，钟鼎生物也可以根据客户的需求，定制配对抗体和抗独特型抗体等特殊的单克隆抗体服务项目。



## 单克隆抗体制备服务流程

实验阶段	实验步骤	实验说明	实验周期
动物免疫阶段	设计实验方案	客户有特殊需求，需提供详细的实验要求	2工作日
	抗原合成及偶联	公司合成抗原及偶联	2-3周
	免疫实验动物	5只6-8周龄BALB/C小鼠，Elisa检测即时效价	7-8周
	Elisa检测	以免疫原为抗原样品，保证Elisa检测效价1:50000以上	1周
单克隆杂交瘤细胞株的建立阶段	细胞融合	取小鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞融合，筛选阳性克隆	2-3周
	克隆扩增和初选	扩增并低温保存一个成功融合的产物	1周
	亚克隆	有限稀释法亚克隆至形成稳定的单克隆融合细胞株	4-6周
	抗体鉴定（依据订单要求）	测定上清抗体亚型、特异性、抗体中和反应性及抗体配对参数	1-4周
	腹水制备/转瓶培养	依据客户要求，根据抗体需求量提供不同种类服务	2-3周
	抗体纯化	利用Protein A亲和纯化	1周
单克隆杂交瘤细胞株的检测验收阶段		提供的杂交瘤培养物的腹水（或上清液）与顾客方提供的抗原样品有特异性结合，抗体特异性只针对客户方提供的免疫抗原或筛选抗原做出保证	
单克隆杂交瘤细胞株的交付阶段		2-3株杂交瘤细胞株和少量细胞培养上清液，需要纯化的订单会依据订单要求提供纯化后抗体，并给出相应的鉴定报告（包括单抗的亚型）	

技术支持热线：400-025-1124

钟鼎生物是中国最具特色的抗体制备实验平台之一，我们在小分子抗体制备领域具有领先的技术优势，可以从应用着手，开发ELISA试剂盒和胶体金检测试纸。一站式平台可以轻松解决客户不同的需求，无论您的实验进行到任何阶段，我们都可以实现无缝对接！用我们的专业帮您获得最具有应用价值的细胞株！

# 单抗制备

## “鼠”我第一



● 必做项目      ○ 据实验结果选做项目      ▲ 依据客户需求选做项目

实验阶段	实验环节	多肽→抗体	蛋白→抗体	基因→抗体	实验周期	
抗原制备阶段	多肽抗原	抗原表位分析，多肽抗原设计	●			2周
		多肽合成及偶联-KLH	●			
	蛋白抗原	抗原性分析，确认抗原区域			○	2-3周
		目的基因优化合成			○	
		表达载体构建			●	
		蛋白表达鉴定分析			●	
	重组蛋白纯化		○	●		
动物免疫及检测	动物免疫	免疫5-10只小鼠（常规5只）	●	●	●	6-9周
		三免后ELISA检测	●	●	●	
		第四次加强免疫	○	○	○	
		ELISA或WB检测	○	○	○	
细胞融合及筛选	细胞筛选	细胞融合	●	●	●	4-6周
		克隆扩增和初筛	●	●	●	
		有限稀释法亚克隆	●	●	●	
		细胞上清检测	●	●	●	
		抗体鉴定（依据订单要求）	○	○	○	
抗体纯化及检测	腹水制备/转瓶培养	免费赠送	免费赠送	免费赠送	2-3周	
	protein A纯化腹水	免费赠送	免费赠送	免费赠送		
抗体应用服务	亚型鉴定	○	○	○	待定	
	抗体测序	▲	▲	▲		
	抗体胶体金标记	▲	▲	▲		
	ELISA KIT 开发	▲	▲	▲		



**说明：**

- 1、每一个客户制备抗体的实验目的都不相同，因此针对不同的应用，需要设计不同的抗体制备方案，我们一对一专项的技术支持人员帮您确认方案。
- 2、每一个成功的抗体都有其应用范围，我们不承诺每个抗体都可以“包打天下”，可以满足各种应用。
- 3、每一个细胞株都是精挑细选的成果，也意味着我们付出了相应的工作，因此标准服务我们只提供2株阳性细胞株，如果想要更多，请提前说明。

## 小鼠单克隆抗体制备服务

基于宿主为小鼠的单克隆抗体制备服务是钟鼎生物优势服务项目之一，利用蛋白表达重组抗原技术优势和先进的抗原位点分析软件，我们可以获得更加精确的抗原靶点。在经验丰富的工作人员按照规范化的实验流程操作下，制备出特异性强、亲和力高的单克隆抗体。同时我们提供强大的后期技术支持，解决客户的技术烦恼。



### BA101 - 59天快速单克隆阳性细胞株制备套餐

客户提供	交付标准	服务周期	咨询报价
抗原信息及抗原检测报告 提供抗原要求 重组蛋白2-3mg 纯度80%以上 偶联后多肽5mg 纯度85%以上 实验预期或实验详细要求	1-5株阳性细胞株 Elisa效价大于1:10万 5mg, 纯度>95%的单株腹水抗体 详细实验报告	<b>59天</b>	 技术支持: 400-025-1124  QQ客服: 2392873498
<b>补充说明</b> >>> 如果某些抗原的抗原性较弱，我们无法按照合同约定在59天内获得阳性细胞株，我们会及时与您沟通，并将订单一转变为常规的单抗制备服务，价格减免3000元。同时，我们会赠送价值3000元的腹水制备及纯化服务。			



### BA102 - 单克隆阳性细胞株+抗体纯化制备套餐(钟鼎合成抗原)

客户提供	交付标准	服务周期	咨询报价
抗原信息及抗原要求 合成抗原要求 重组蛋白2-3mg 纯度80%以上 偶联后多肽5mg 纯度85%以上 小分子抗原3mg以上, 细菌//病毒颗粒 $10^7$ 以上 实验预期或实验详细要求	少量检测抗原 1-4株阳性细胞株 Elisa效价大于1:10万 5mg, 纯度>95%的单株腹水抗体 详细实验报告	24-26周	抗原费用 + 19800元
<b>补充说明</b> >>> 委托钟鼎生物通过重组蛋白，合成偶联多肽或者其他方式制备免疫原，免疫并筛选针对于免疫原的阳性细胞株，提供细胞培养上清，由客户验证细胞株的特异性和亲和力指数。			

### BA103 - 小分子单克隆阳性细胞株制备服务

客户提供	交付标准	服务周期	咨询报价
抗原分子结构式 小分子化合物1毫摩尔 小分子抗原文献资料 实验预期或实验详细要求	抗原偶联检测报告 可用于竞争法的2-4株阳性细胞株, Elisa效价大于1:2万 5mg, 纯度>95%的单株腹水抗体 详细实验报告	26-28周	 技术支持: 400-025-1124  QQ客服: 1342834865

### BA104 - 配对型单克隆阳性细胞株制备服务

客户提供	交付标准	服务周期	咨询报价
抗原信息及抗原要求 合成抗原要求 重组蛋白2-3mg 纯度80%以上 偶联后多肽5mg 纯度85%以上 小分子抗原3mg以上, 细菌//病毒颗粒 $10^7$ 以上 实验预期或实验详细要求	少量检测抗原 针对不同抗原表位的2-4株阳性细胞株, Elisa效价大于1:10万 5mg, 纯度>95%的单株腹水抗体 详细实验报告	26-28周	 技术支持: 400-025-1124  QQ客服: 1342834865
<b>补充说明</b> >>> 委托钟鼎生物通过重组蛋白，合成偶联多肽或者其他方式制备免疫原，免疫并筛选针对于免疫原的阳性细胞株，提供细胞培养上清，由客户验证细胞株的特异性和亲和力指数。			



## 单克隆抗体制备服务实验报告案例

本案例基于使用蛋白抗原免疫小鼠产生应答，融合产生杂交瘤细胞筛选阳性单克隆细胞株的方法制备单抗，经检测获得的抗体效价可达1:10万以上，获得可配对的4株抗体。本案例所涉及数据及实验方法结论，未经钟鼎生物授权，任何单位及个人不得转载或盗用，违者必究！

### 一、实验设计

利用钟鼎表达的重组蛋白SVC做为抗原，免疫BALB/c小鼠，3免后检测效价，达标后取脾脏细胞融合骨髓瘤细胞获得杂交瘤细胞，通过有限稀释法筛选单克隆抗体细胞株，定株后的细胞株所得的腹水进行protein A纯化获得单克隆抗体并进行抗体标记，通过夹心ELISA方法进行检测XXX蛋白。根据检测结果其中4E5. 12F5. 4C12. 4F12纯化的单克隆抗体可互相配对，并进行胶体金标记及试纸条制备。

### 二、试剂和耗材

DMEM 高糖、DMEM低糖、胎牛血清、胰蛋白酶、opti SFM、转染试剂等购自Invitrogen (Gibco) 无内毒素质粒中提试剂盒、LAL内毒素检测试剂、基础化学试剂等(购自Sigma公司) 六孔板(购自Corning公司) 细胞培养瓶(购自Corning公司) 离心管(购自Corning公司) 高糖DMEM培养基(购自Gibco公司) 细胞计数板(购自Improved Neubauer) 液体石蜡(钟鼎公司) PEG(购自Sigma) 96细胞培养板(购自Costar, 批号3599) 它试剂均为国产分析纯

### 三、主要实验仪器

Allegra 21R 台式高速冷冻离心机(美国BECKMAN公司), 台式高速离心机(德国SORVAL公司), Biologic LP层析系统、Mini Protean II垂直平板电泳系统、Gel Doc2000成像系统、水平电泳系统(美国BIO-RAD公司), PTC-200基因扩增仪(美国MJ Research公司) 320-S pH计(美国Mettler Toledo公司), AR5120电子天平(美国AHOH S公司), MultiTemp III 恒温水浴锅、Hofer MV-25紫外透射仪(美国Amersham Pharmacia公司), 雪花状制冰机(日本SANYO公司), JY92-2D超声波细胞粉碎机(中国新芝科器研究所), 蛋白核酸检测仪(南京大学普阳科学仪器厂), 超净工作台(中国苏净集团), NANODROP2000(美国Thermo公司)

### 四、实验分析及设计

#### 1. 动物免疫

选取6只6-8周龄雌性BALB/c小鼠，将XXX蛋白与弗氏完全佐剂混合首次免疫，皮下注射100ug，2-3周加强免疫一次，采用弗氏不完全佐剂与抗原混合，皮下注射100ug。四免后采血检测，通过间接ELISA方法确定抗血清针对XXX蛋白的效价，待效价大于1:10,000，选择1-2只小鼠进行细胞融合安排。

#### 2. 细胞融合

##### 2.1 骨髓瘤细胞制备

融合前一周，用含10%FBS DMEM培养基扩大培养SP2/0细胞。到融合时，细胞长满大约6瓶T25细胞培养瓶，在融合当天收集SP2/0细胞到50ml离心管中，1000rpm, 5min离心。弃上清，然后再加入20ml DMEM基础培养基，吹散细胞然后计数。

##### 2.2 脾细胞制备

四次免疫后血清ELISA效价在1:10000以上的小鼠，在融合前3天终免，腹腔注射抗原100ug。融合当天用颈椎脱臼法安乐死要融合的小鼠。用75%酒精浸泡5min。无菌取脾脏，把脾脏放入内有10ml DMEM基础培养的培养皿中。取筛网放入另一个平皿中，将脾脏转移到筛网上，用注射器内心研磨脾脏。加入DMEM到筛网上，冲洗筛网，使脾细胞更多的收集到平皿中。将细胞移至10ml离心管中，用不含血清的DMEM洗脾细胞两次，1000 rpm离心5min，收集脾细胞计数。



## 2.3 细胞融合

混合骨髓瘤细胞和脾细胞，使骨髓瘤细胞同脾细胞数量比在1：20为宜。把细胞放到50ml离心管中，用DMEM基础培养基稀释，然后离心1000rpm 5min。弃上清。摇动离心管使细胞均匀。缓慢加入0.8ml 50%PEG，反应90秒，然后加入20-30ml DMEM培养基终止PEG，把融合后的细胞放到37°C水浴锅中反应10分钟。1000rpm 5min，弃上清然后加入HAT DMEM培养基。把融合后的细胞铺到96孔板中，每孔100 μl。然后将细胞培养板放到CO2培养箱中培养。融合后4天查看，杂交瘤细胞克隆率在50%以上，有少量的细胞碎片，细胞生长状态良好。融合10天后开始进行筛选检测。

## 3. 融合筛选及亚克隆

### 3.1 融合筛选

在检测的前一天，用PBS包被5ug/ml抗原于ELISA板，过夜。次日吸取细胞上清100ul/孔进行ELISA检测根据ELISA结果，判断阳性孔（样品孔OD值/阴性孔OD值 $\geq$ 2.1则判定为阳性孔。用单道移液器挑检整板检测出的阳性孔，进行第二次确认检测，进一步确认阳性孔。确定后的阳性孔细胞进行亚克隆。

### 3.2 亚克隆

吹打阳性孔中细胞，计数，在离心管中加入N/4 ml DMEM培养基，取100ul细胞悬液到离心管中，吹匀后留1ml，补加DMEM到4ml，吹匀，留100ul（约2滴）在管底。在离心管中加DMEM至5ml，混匀后滴加至96孔板的前三行，每孔一滴管底留1.8-2ml左右，补加DMEM至5ml，吹匀后滴加至96孔板的D、E、F三行，每孔一滴，管底留1.5-1.8ml左右，补加DMEM至2.8-3ml左右，吹匀后滴加至96孔板的G、H行，每孔一滴，7-10天后在显微镜下观察，检测有克隆生长的孔，标记出单克隆的孔，尽可能挑取阳性的单克隆细胞进行再次亚克隆，检测至100%阳性后，挑出单克隆孔扩大培养定株。

## 4. 腹水制备及纯化

### 4.1 腹水制备

每只小鼠腹腔内注射0.5ml液体石蜡，7天后30天以内向预处理过的小鼠腹腔内注射杂交瘤细胞。按每只小鼠注射 $1 \times 10^6$ 个细胞的量，注射杂交瘤细胞。7至十天，用注射器针头小心采出尽可能多的液体。小鼠在最后一次采集后颈椎脱臼法处死。

### 4.2 腹水纯化

将所收集的腹水离心取上清，准备好蛋白A琼脂糖介质并装柱，将腹水用PBS稀释10倍后缓慢上样，上样结束后用磷酸盐缓冲液洗涤至紫外检测仪达到最低值，甘氨酸洗脱缓冲液洗脱，即得到所需纯化抗体，立即在PBS中进行4度透析过夜，隔日进行纯度，浓度和效价测定。

## 五、实验结果

### 5.1 4免后小鼠血清效价 ELISA 结果

经免疫后小鼠均产生高效价抗体，具体结果如下：

包被抗原：蛋白XXX

包被浓度：5 ug/ml，100ul / 孔

包被缓冲液：磷酸盐缓冲液（PBS，pH 7.4）

二抗：兔抗鼠-HRP

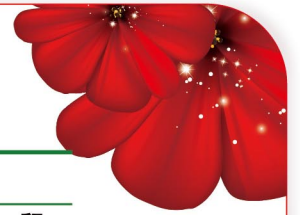


表 1: 血清ELISA 结果 (起始稀释度: 1:500, 效价即样品OD/空白OD >=2.1的最高稀释度)

Dilution	A450nm					
	1#鼠	2#鼠	3#鼠	4#鼠	5#鼠	
1	500	2.605	2.489	2.566	2.327	2.420
2	1,500	2.519	2.404	2.419	2.251	2.236
3	4,500	2.404	2.222	2.133	2.143	1.859
4	13,500	2.140	1.859	1.642	1.688	1.194
5	40,500	1.613	1.204	1.004	1.136	0.987
6	121,500	1.447	0.997	0.875	1.015	0.616
7	空白			0.068		
Titer:		>1:121,500	>1:121,500	>1:121,500	>1:121,500	>1:121,500

5.2 融合筛选结果

选取效价较高的3#小鼠进行细胞融合, 经ELISA筛选阳性克隆结果如下:

包被抗原: 蛋白 XXX

包被浓度: 5 ug/ml, 100ul / 孔

包被缓冲液: 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4)

二抗: 兔抗鼠-HRP

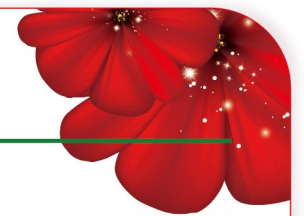
表 2: 融合后细胞上清ELISA 结果

①号板											
A450nm											
0.208	0.136	0.271	0.117	0.095	0.176	0.124	0.095	0.100	0.094	0.189	0.081
0.129	0.946	0.100	0.290	0.069	0.068	0.728	0.121	0.097	0.548	0.137	0.232
0.140	0.118	0.102	0.077	0.122	1.385	0.064	0.086	0.066	0.146	0.138	0.100
0.333	0.154	0.116	0.078	0.084	0.082	0.084	0.073	0.221	0.087	0.166	0.180
1.004	0.108	0.103	0.060	0.130	0.168	0.193	0.126	0.070	0.173	0.092	0.077
0.109	0.138	0.113	0.106	0.128	0.141	0.165	0.073	0.075	0.111	0.093	0.121
0.092	0.098	0.113	0.149	0.143	0.112	0.121	0.070	0.092	0.085	0.178	0.186
0.128	0.112	0.150	0.093	0.268	0.107	0.139	3.024	0.126	0.283	0.198	0.048

②号板											
A450nm											
0.218	0.451	0.238	0.134	0.274	0.185	0.172	0.155	0.230	0.162	0.342	0.193
0.463	0.144	0.174	0.084	0.104	0.122	0.199	0.109	0.204	0.130	0.116	0.161
0.135	0.101	0.231	0.082	0.108	0.122	0.135	0.087	0.108	0.118	0.134	0.089
0.107	0.509	0.127	0.140	0.150	0.086	0.074	0.228	0.113	0.114	0.112	0.093
0.162	0.127	0.143	0.103	0.093	0.076	0.099	0.084	0.152	0.111	0.688	0.925
0.113	0.118	0.114	0.163	0.104	0.115	0.111	0.178	0.130	0.117	0.070	0.141
0.142	0.132	1.068	0.117	0.273	0.105	0.111	0.094	0.192	0.199	0.170	0.178
0.141	0.706	0.144	0.131	0.121	0.336	0.106	0.121	0.130	0.167	0.146	0.060





③号板

A450nm

0.747	0.162	0.145	0.203	0.165	0.140	0.181	0.127	0.207	0.169	0.238	0.169
0.112	0.122	0.125	0.100	0.080	0.094	0.165	0.110	0.215	0.263	0.115	0.921
0.137	0.128	0.429	0.161	0.124	0.076	0.172	0.098	0.167	0.094	0.082	0.196
0.087	0.286	0.186	0.216	0.115	0.216	0.159	0.088	0.104	0.211	0.260	0.218
0.087	0.109	0.072	0.107	0.121	0.079	0.126	0.070	0.091	0.106	0.118	0.097
0.148	0.118	0.106	0.116	0.161	0.084	0.173	0.150	0.746	0.106	0.120	0.082
0.135	0.155	0.182	0.161	0.132	0.084	0.096	0.108	1.987	0.223	0.158	0.213
0.116	0.120	0.097	0.089	0.082	0.413	0.186	0.316	0.116	0.129	0.183	0.051

④号板

A450nm

0.274	0.220	0.332	1.683	0.272	0.233	0.198	0.186	0.160	0.198	0.192	0.162
0.126	0.106	0.154	0.147	0.112	0.111	0.135	0.154	0.125	0.179	0.111	0.143
0.142	0.465	0.182	0.145	0.124	0.122	0.171	0.177	0.093	0.119	0.091	0.109
0.116	0.124	0.174	0.121	0.097	0.128	0.160	0.174	0.138	0.180	0.312	0.146
0.097	0.105	0.142	0.152	0.168	0.142	0.622	0.956	0.119	2.344	0.143	0.112
0.090	0.152	0.167	0.120	0.303	0.116	0.154	0.117	0.096	0.092	0.086	0.105
0.183	0.150	0.215	0.168	0.150	0.146	0.268	0.130	0.139	0.129	0.126	0.127
0.204	0.134	0.266	0.119	0.283	0.082	0.760	0.096	0.133	0.110	0.255	0.061

⑤号板

A450nm

0.207	0.242	0.131	0.181	0.592	0.201	0.160	0.157	0.135	0.230	0.181	0.181
0.114	0.095	0.101	1.551	0.143	0.138	0.120	0.163	0.274	0.150	0.155	1.613
0.108	0.219	0.098	0.117	0.106	0.124	0.106	0.108	0.131	0.120	0.111	0.218
0.189	0.319	0.140	0.098	0.127	0.121	0.128	0.091	0.150	0.212	0.116	0.096
0.664	0.190	0.509	0.099	0.196	0.099	0.137	0.111	0.126	0.159	0.121	0.111
0.409	0.152	0.179	0.278	0.141	0.186	0.131	0.099	0.084	0.118	0.110	0.101
0.165	0.315	0.449	0.102	0.146	0.112	0.116	0.390	0.594	0.222	0.180	0.246
0.394	0.141	0.362	0.109	0.242	0.158	0.079	0.204	0.116	0.181	0.084	0.62



5.3 亚克隆细胞定株后结果

选取10株阳性细胞进行亚克隆, 经ELISA筛选后定7株结果如右:

包被抗原: 蛋白XXX

包被浓度: 5 ug/ml, 100ul / 孔

包被缓冲液: 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4)

二抗: 兔抗鼠-HRP

4G2	2.744
4G6	2.702
4E5	2.568
12B8	2.448
12F5	2.544
4F12	2.695
4C12	2.697

说明: 定株后的细胞株, 选择细胞状态及效价最好的4F12. 4C12. 12F5. 4E5细胞株进行腹水制备和纯化。

5.4 腹水纯化后抗体效价及浓度、纯度检测

(1) 定株后细胞株选择所得腹水经纯化后ELISA效价如下:

包被抗原: 蛋白XXX

包被浓度: 5 ug/ml, 100ul / 孔

包被缓冲液: 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4)

二抗: 兔抗鼠-HRP

	Dilution	A450nm			
		4E5 抗体	12F5 抗体	4F12 抗体	4C12 抗体
1	500	2.982	3.244	3.505	3.360
2	1,500	2.935	3.067	3.417	3.255
3	4,500	2.892	3.009	3.328	3.197
4	13,500	2.784	2.756	3.152	3.059
5	40,500	2.725	2.197	2.993	2.810
6	121,500	2.546	1.622	2.458	2.493
7	空白	0.057	0.083	0.080	0.066
	Titer:	>1:121,500	>1:121,500	>1:121,500	>1:121,500

抗体纯度及浓度检测

1    2    3    4

抗体浓度:

4E5: 2.44mg/ml

12F5: 1.12mg/ml

4C12: 2.10mg/ml

4F12: 1.77mg/ml

缓冲液: 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4)



# 了解钟鼎的更多信息



钟鼎生物技术有限公司是一家专注从事生命科学研究、产品开发和技术服务的公司。提供分子生物学技术服务，基因工程生物学操作，蛋白表达和纯化，蛋白理化性质分析，抗体制备等免疫学相关技术服务；在提供生物技术服务的同时，开发出一系列配套的高性价比的附属产品，经过多方的使用及改进，更加贴近客户使用习惯，有助于提高实验效率。

2013年5月，公司喜迁至南京市孝陵卫双拜巷78号钟山生命科技园，公司新建1500平米的实验区和办公区，装配了万级的细胞操作间和RNA操作间，增添了荧光定量PCR仪器，电转化设备及HPLC纯化检测等设备。实验环境和工作环境进一步改善。

2014年，快速成长的钟鼎公司加强基础平台创新及新技术开发，同年申请并通过8项专利，筹建了检测实验平台，可帮助科研用户检测植物激素、糖类、酶类、生物碱、氮磷钾等元素等指标。经过我们的不懈努力，在当地政府的大力支持下，被评定为“江苏省民营高科技企业”。

2015年，公司引进蛋白质组学、免疫学、生理生化学等多名高端技术人才，形成以博士为主的核心技术团队，同年顺利获批“国家级高新技术企业”，成为名副其实的“高”“精”“尖”科技单位。

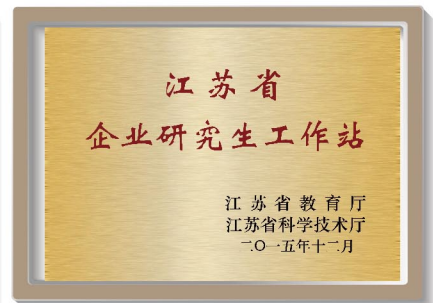
经过几年的高速发展，钟鼎生物在蛋白表达、抗体制备、Southern Blot、激素检测等项目脱颖而出，逐渐成为行业的标杆，已协助客户发表中英文论文500余篇，其中不乏IF>10的高水平文章。我们正以鸾凤集梧桐的姿态广纳贤才，踌躇满志前行！



高新技术企业证书



民营科技企业证书



企业研究生工作站



## 诚信笃实 钟鼎之志

南京钟鼎生物技术有限公司主要以技术服务外包为主,完善的技术服务平台拥有核心的技术力量、先进的设备资源、专业的客户服务体系。可以为广大的科研院所及医药、食品、农业研发及检测机构提供最优质的技术服务项目。钟鼎生物的技术服务平台主要分为两大部分,其一为生物学试剂及实验材料定制类部分,其二为生物科研样品检测类部分。



**定制类:** 为科研工作者提供基因合成、基因亚克隆、原核、酵母及真核体系重组蛋白表达、多克隆抗体制备、单克隆抗体细胞株制备、抗体测序及重组表达、ELISA试剂盒开发、胶体金试纸条开发等项目。

**检测类:** 为科研工作者提供植物/土壤/水体中的理化检测,例如氮含量测定、植物激素测定等;同时我们的生物学平台可以提供 Southern Blot/Northern Blot/Western Blot检测服务及蛋白GST-PULL-Down,酵母双杂交等项目检测蛋白互作,蛋白质组学平台可以便捷的进行蛋白质理化性质解析检测。

## 选择钟鼎的4大理由

**1 专家级别的技术平台**  
美国R&D公司前技术主管领军  
的博士团队,近20年经验。

**2 国家级高新技术企业**  
国家科技部火炬中心认定的  
2015年第一批高新技术企业

**3 强劲有力的硬件平台**  
进口设备,进口试剂原料耗  
材,训练有素的工程师

**4 外包服务经验丰富**  
钟鼎生物以定制CRO服务为核心  
业务,具有丰富的外包经验



# 钟鼎 生物

那一年

你在Southern，我在Northern

等“带”的日子里

心中的执念，犹如探针在暗盒中的光芒  
刹那的耀眼！

道路的荆棘如EMSA阻滞眼前

夜空中SYBR Green的荧光流转

HRM曲线划开

一往无前的气概！

抗体在手，快如利剑

重组蛋白，如战锤般砸向课题的关隘

你(A)我(T)她(G)他(C)

汇成铁骑洪流

在SCI，插满钟鼎的标签！



我们恪守“诚信笃实，钟鼎之志”的企业理念，一步一步走向未来：

2011年，“钟鼎生物”这颗满含希望的种子破土而出，一鸣惊人，业绩保持300%的增长。

2013年，钟鼎生物发展壮大，公司搬迁至钟山生命科技园，面积达到1500m<sup>2</sup>，各个服务平台日趋成熟。

2014年，组建生理生化检测平台，申请通过8项专利，入选“江苏民营高科技企业”，公司业绩一飞冲天，扶摇直上。

2015年，申请并通过“国家高新技术企业”，并顺利入选“南京高校企业研究生工作站”！

.....筚路蓝缕 以启山林，我们在路上.....