

实验者系列

蛋白表达与抗体制备

Recombinant Protein & Antibody Preparation



Frdbio[®]
Bioscience & Technology

实验宝典
Experiment Standard
Operating Procedure

快速进入您的实验请从以下SOP开始

SOP01	动物组织及细胞mRNA的提取制备	11
SOP02	mRNA反转录/cDNA的合成	12
SOP03	酶切连接法构建载体	17
SOP04	Simpleclone重组酶法构建载体	17
SOP05	Ni-NTA层析柱亲和纯化6His标签融合蛋白(可溶表达)	22
SOP06	谷胱甘肽亲和柱纯化谷胱甘肽还原酶(GST)标签融合蛋白	23
SOP07	GST融合蛋白标签柱上酶切	25
SOP08	包涵体蛋白纯化	27
SOP09	Ni-NTA层析柱亲和纯化6His标签融合蛋白(包涵体表达)	28
SOP10	-SH介导多肽与载体偶联	29
SOP11	EDC或EDC/NHS介导多肽与载体偶联	30
SOP12	GA(Glutaraldehyde,戊二醛)介导多肽与载体偶联	30
SOP13	兔耳静脉取血方法	31
SOP14	大小鼠眼眶取血方法	31
SOP15	弗氏佐剂乳化免疫抗原	32
SOP16	兔注射免疫	32
SOP17	鸡的选择和免疫	32
SOP18	间接ELISA法检测抗血清效价	33
SOP19	兔颈动脉放血与血清分离	34
SOP20	琼脂扩散实验检测抗血清效价	34
SOP21	饲养细胞的制备	35
SOP22	单克隆抗体杂交瘤细胞融合	36
SOP23	杂交瘤融合细胞铺板培养	37
SOP24	杂交瘤细胞的亚克隆	38
SOP25	单克隆杂交瘤细胞株冻存	38
SOP26	单克隆杂交瘤细胞株复苏	39
SOP27	小鼠腹水生产	39
SOP28	(NH ₄) ₂ SO ₄ 沉淀法纯化抗体	40
SOP29	辛酸-硫酸铵法纯化腹水中的抗体	40
SOP30	Protein A /Protein G/ Protein L亲和纯化抗体	42
SOP31	含氨基配体特异性亲和柱的制备	42
SOP32	含巯基抗原/多肽特异性亲和柱的制备	43
SOP33	水稀释法提纯IgY抗体	43
SOP34	抗体/蛋白的HRP标记(NaIO ₄ 氧化法)	45
SOP35	抗体/蛋白的FITC标记	45
SOP36	抗体/蛋白的生物素(Biotin)标记	46

前言

本技术手册由福因德生物技术团队编写，旨在与实验者分享重组蛋白和抗体制备实践经验。全书以实践操作经验为主，为了行文方便，适当叙述一些浅显理论。手册总共十章36个标准操作流程（Standard Operating Procedure, SOP），主要内容包括：1.重组蛋白从基因到蛋白纯化，大篇幅阐述重组蛋白表达方案的设计方案和重组蛋白纯化，尤其是包涵体蛋白的纯化；2.多肽抗原制备，主要介绍了多肽完全抗原的设计与制备方法；3.抗体制备主要介绍了动物免疫、抗体纯化、抗体保存及抗体的标记修饰，其中详细介绍了单克隆抗体的制备流程和抗体纯化流程。

福因德生物实验室的标准操作流程SOP是福因德技术团队在实践工作中的经验总结，可作为实验者科研实践的参考。生命科学的发展日新月异，大量的科学研究需要跨学科合作，科研工作者经常需要接触全新领域，而一些基础领域往往只是科研中的一过性步骤，在此耽误大量时间和精力确实得不偿失，福因德的宗旨就是助力科研提速，节约时间和经济成本。“术业有专攻”，福因德生物技术团队主要致力于分子生物学与抗体免疫学这些“简单”工作的技术研发，“无他，唯手熟尔！”我们就是技术工匠，把“简单”重复的工作精雕细琢，奉献给实验者，哪怕一点点帮助，我们也欣慰，唯如此，才能不辜负实验者对我们的支持和信任。

本手册SOP中所涉及的试剂在文中用**黑体**标注，其配方紧跟其后（括号内详注）。在进行实验前，实验者应该先通读整个SOP，并预先配制/准备（也可直接从福因德生物订购）SOP中每一个溶液和材料，才能保证实验顺利进行；必须注意的是所有的试剂，包括水，应该保证其质量，从正规厂家和途径购买，尽可能选用原装试剂。SOP中用特殊标记凸显的文字注释，一定要注意阅读，这些注意事项都是实验的关键细节部分。部分SOP后面附加了实验中经常遇到的问题及解决方案。如果在您的科研中遇到文中没有提及的问题都可以咨询福因德技术团队(tech@friendbio.com)。

本手册力求通俗易懂，实验者无论有无此方面的基础，翻开本手册按照SOP可以快速进入实验。SOP中所涉及的核心试剂与材料，全部由福因德生物研发生产，可保证流程的稳定性和经济性；实验者如有需要可联系我们订购，我们保证：福因德生物所提供的试剂都是经过反复优化测试验证的，实验者可放心选购。

除本手册外，《实验者系列》后期将陆续推出《生物标记（Bioconjugate）》、《免疫印迹（Western Blotting）》、《细胞增殖与凋亡（Cell Proliferation & Apoptosis）》、《酶联免疫吸附实验（ELISA）》和《胶体金（Colloidal Gold）》技术手册支持您的科学研究，如有需要可扫描封底二维码在线联系我们索取。

福因德生物技术团队

2017.6

目 录

01 抗体制备方案设计	01	07 抗体的纯化	40
抗体制备所需的基本要求	01	沉淀法纯化抗体	40
抗体制备的基本原则	01	Protein A/Protein G/Protein L亲和纯化抗体	41
用于动物免疫的抗原的基本要求	02	抗原配体特异性纯化抗体	42
常用抗原类型及制备方法	03	IgY抗体的纯化	43
抗原免疫注意事项	05		
02 抗原制备方案设计	06	08 抗体的保存	44
原核重组表达抗原方案设计	06	抗体的浓缩方法	44
多肽抗原方案设计	07	抗体的浓度测定方法	44
多肽抗原还是重组蛋白抗原选择问题	10	抗体的保存方法	44
03 原核重组蛋白抗原制备	11	09 抗体的标记修饰	45
重组蛋白基因的获取	11	抗体/蛋白的辣根过氧化物酶(HRP)标记	45
原核表达载体构建	13	抗体/蛋白的FITC标记	45
重组质粒的诱导表达	18	抗体/蛋白的生物素(Biotin)标记	45
表达异常问题的分析处理	19		
蛋白表达的确证(SDS-PAGE电泳/Western Blot)	20	10 抗体的应用	47
包涵体形成原因及分析	20	抗体在科研中应用	47
蛋白可溶性表达的解决方案	20	抗体在生物医药检测方面的应用	47
包涵体纯化与复性(蛋白重折叠)	25		
04 多肽完全抗原的制备	29	产品列表	48
05 多克隆体制备	31	RNA试剂基因组DNA试剂 RT 逆转录扩增试剂	
动物免疫	31	重组蛋白标签切割蛋白酶	48
抗体效价的监测/检测	33	原核表达质粒重组蛋白纯化填料 PCR扩增试剂	
动物免疫血清采集与保存	34	荧光定量PCR试剂标签抗体	49
抗血清效价的测定	34	克隆连接试剂克隆表达常用感受态细胞	
抗血清的保存	34	上清可溶性表达试剂包涵体纯化试剂多肽偶联试剂	50
06 小鼠单克隆抗体制备	35	ELISA试剂细胞与单克隆抗体试剂	
PEG融合法获得单克隆抗体杂交瘤细胞	35	标记物配套试剂底物液	51
杂交瘤细胞株的冻存与复苏	38	免疫佐剂抗体纯化试剂抗体保存与稳定试剂	
单克隆抗体的生产	39	抗体标记试剂盒 抗体标记物保存与稳定试剂	52
单克隆抗体亚型鉴定	39	服务列表	53
		蛋白表达 蛋白纯化 多抗制备 单抗制备	
		抗体标记 抗体纯化	53

抗体制备方案设计

抗体制备所需的基本要求

启动抗体制备之前，我们需要问清以下七个要求：

1.这个抗体用于做何种实验(ELISA、IHC、Western Blot、IF或者IP等)?(功能性要求)

实验者根据实验需求提出对抗体的功能性要求。对一个抗体功能要求越多，其制备难度也就越大。

2.是否已有商品化的抗体可以满足以上功能需求?(便利性要求)

科研工作者对抗体提出需求,首先应考虑商品化抗体:优质商品化抗体一般都经过多层验证和优化,可以直接购买使用,节约时间。一个抗体很难同时满足几项功能要求,这个时候可以考虑分别选购针对不同功能的抗体;除此之外,还需仔细查看抗体数据信息和实验图片,其实验所采用的标本和方法与自己准备实验的标本越相似越好。

3.抗体需要什么种属来源(兔子、山羊、大鼠或小鼠等)?(抗体属性要求)

制备多抗选用最多的是兔子,单抗选用最多的是小鼠,对于抗体需求量较大,比如二抗,一般选择山羊。对于其他种属要求,除实验设计需求,更多是因为抗原与免疫宿主亲缘关系问题,一般来说亲缘关系越远,免疫原性越好。

4.需要多抗还是单抗?(品质性要求)

大部分人认为单抗比多抗好,其实也不尽然。单抗的特异性好,对于需要区分鉴定同源性较高的抗原或者对于特异性要求较高时,一般选择单抗;单抗性质比较稳定,理化性质均一(所有的抗体都是由相同细胞分泌出来)。多抗的优点是效价和灵敏度高,其针对一个抗原的多表位;与单抗相比,待检标本中同样的蛋白表达丰度,多

抗会有更多抗体分子与抗原结合,信号更强,当然也可能引起非特异性问题。

5.已具备的抗原信息或材料(抗原信息或材料:CDS序列,重组质粒,重组蛋白、多肽等)?(可能性要求);

好的抗原是制备优质抗体的前提,在制备抗体之前必须有可能制备出好的抗原。如果已经有抗原,可以直接免疫动物;如果没有抗原需要从其已获得的信息或者材料入手制备抗原:序列信息-基因-重组表达-蛋白纯化。对于同源序列较高的蛋白序列也可以考虑通过设计合成多肽偶联载体制备抗原。制备的抗原都是通过人工合成或者生物反应器得到的“模拟抗原”,与天然抗原还是有一定的差异的。获得天然抗原的办法可以直接从组织或标本中提取蛋白,前提是这个蛋白在标本中表达量大且其理化性质稳定。

6.是否可建立抗体质检方法(标准的阳性标本及实施抗体实验验证的标准方法)?(可评价要求)

筛选方案和纯化方法对抗体制备至关重要,质检方法决定一个抗体的命运,你用什么筛选方法你就得到什么样的抗体,所以在抗体制备之前必须要保证建立一个科学稳定符合质检要求的抗体制备方法。

7.是否具备抗体生产平台及经验?(可行性要求)。

制备抗体前必须要拥有制备流程所必须的平台设备以及专业人员,如果实验室以前没有涉及这块并且以后也不打算建设此类平台,本着“专业人做专业事最节约成本”的原则,抗体制备的整个流程或者部分环节还是委托给专业公司。

Tips:专业抗体公司基本特点

- 1.有专业技术人员,可以回答您的实验问题,所回答的问题实用,能解决问题。
- 2.有专业平台,制备抗体上下游有比较完善的平台,这个可以咨询他们的业务范围。
- 3.商业口碑:身边实验室有没有在此公司合作成功的案例。

抗体制备的基本原则

抗体制备最为重要的两个原则:适量原则和时间原则。

适量原则

根据抗原可获取的难易程度和实际实验抗体需求量来决定制备抗体的量，小鼠一个免疫周期只要200~400 μ g抗原，一只兔子至少要2mg，而往往高纯度抗原获取的成本都比较高。对于科研来说，能选择小动物就不要选择大动物，小动物的抗体产量足以满足需求；鉴于动物本身个体的差异性，免疫一只兔子的抗原可以免疫4~5只小鼠，这样可以有效避免动物个体差异或动物意外死亡所造的时间成本浪费。

时间原则

主要是为了解决抗体需求急迫性问题，解决实验应急问题（毕业论文或者文章修回补充数据或实验设计方案变更等应急问题），对于免疫原性较好、纯度较高的抗原，可以使用抗体快速制备方案；目前，商业化抗体制备公司推出快速抗体制备服务，主要依赖于水溶性快速佐剂。福因德生物（Frdbio）推出3~5周快速免疫制备小鼠多抗服务，抗体ELISA效价可以接近 $1:1.0 \times 10^5$ ，其所采用的佐剂为福因德自主研发的Frdbio®水溶性佐剂，不需乳化，混匀后直接免疫，抗原使用量只为原来1/5~1/10。

用于动物免疫的抗原的基本要求

好的抗原是制备优质抗体的前提，作为抗原需要具备以下几个最基本要求：

分子量大

大分子物质能长时间留在机体内，有更多机会和免疫细胞（主要是巨噬细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞）接触，引起免疫细胞作出免疫反应（佐剂最主要的作用就是油状物质包裹抗原在体内缓释，形成长期持续刺激）；而对于小分子物质，体内代谢很快将其排出体外，没有机会与免疫细胞接触；同理，即使是大分子物质，如果太容易降解的也不适合做抗原。小于4kD的蛋白很难激发细胞产生抗体的原因，一方面是因为其容易被排出机体；另外一方面平均每5~10kD的蛋白才有一个抗原表位也就是抗原决定簇（epitope），按照平均值几率来说，分子量太小的抗原很难有有效表位（人工设计表位除外）。

外源性强

个体发育的早期，机体对自身物质形成免疫耐受，与机体物质相似度很高的物质一般不会引起机体产生免疫反应，只有异源性的物质侵入体内，机体才能迅速对抗外来物质的侵害，保护自身；但是机体对有些部分如大脑，眼球，睾丸等物质成分不会产生免疫耐受，但此区域有天然屏障，成为免疫赦免区，如果以此类物质作为抗原可以不考虑免疫耐受和外源性问题。

结构复杂

外源性只是从归类宏观角度上论述抗原性问题，实际上从微观上来说，作为抗原的分子物质的结构必须尽可能复杂，简单重复的序列或者直链物质组成的序列一般抗原性都很弱，这类物质包括明胶、淀粉、核酸和多聚氨基酸等。

降解性好

作为抗原，必须是可以降解才能抗原提呈；塑料、钢铁等难降解的物质免疫原也很弱；D-氨基酸组成的物质免疫原性也都非常弱，因为机体不能降解D-氨基酸组成的蛋白或多肽。

常用抗原类型及制备方法

天然提纯抗原

天然蛋白是一种非常好的抗原，主要从机体提取纯化得到的天然抗原（主要是蛋白质）保持了抗原本身结构（自身修饰，正确构象）特点；但是天然蛋白抗原的纯化难度比较大，并且只有表达丰度较高、性质稳定的天然蛋白才具备可纯化条件，其做抗原制备的抗体，一般适合于ELISA、免疫层析和免疫比浊等诊断用途抗体的制备。

重组蛋白抗原

重组蛋白抗原制备常用的有原核表达系统、酵母表达系统、真核表达系统，真核表达系统主要有昆虫细胞-杆状病毒表达和哺乳动物细胞表达系统等。重组表达制备抗原一般会在蛋白序列上加一段用于纯化的标签。除了便于纯化还可以增加蛋白的可溶性和分子量更利于抗体制备，常用的标签主要有GST、6*His、Myc、MBP、Flag、Fc等。根据下游实验对蛋白质的使用需求，如有需要可以切除标签；如不切除，后期抗体在使用时如遇标签抗体干扰，可用标签蛋白免疫吸附去除高免血清中针对标签的抗体。重组蛋白与天然蛋白相比，在构象、修饰和蛋白活性上还是有差距的，真核与原核相比，更接近于天然蛋白；这类抗原制备一般适合于Western Blot、IHC、ELISA以及免疫层析、胶体金和免疫比浊等诊断类抗体的制备，制备的过程需要用含内源性蛋白标本进一步筛选验证。

科研用途的抗体，对其品质要求要远远低于诊断用途的抗体，在抗原全长表达遇到瓶颈的时候，可以考虑选取抗原表位性和特异性较强区段进行分段表达尝试，分段选取的技术方案需要专业人员根据方方面面情况综合考虑，初学者往往不得门而入；福因德技术团队在整合大量案例数据和项目经验的基础上，将会不定期与科研工作者分享这方面的经验。

抗原制备最为重要的环节就是抗原的纯化，通过重组蛋白制备抗原当然也不例外，在项目开始之前这个难度往往被忽视，实验者往往认为既然在抗原设计的时候融合了纯化标签，纯化过程按照标准流程操作，得到高纯度抗原就是水到渠成，然而结果往往不如人意；诸如，明明带了标签的蛋白挂不上纯化柱子、洗脱下来的蛋白杂带比目的带还多、目的蛋白结合在柱子上洗脱不下来等等。蛋白纯化在业界都是一大难题，一个蛋白的纯化往往会用到几种方案和策略。根据福因德生物技术团队的经验，纯化出一个符合抗体制备要求的重组抗原蛋白至少要用2-3种手段，常用的手段有离子交换层析、标签亲和层析、凝胶过滤分离层析等等。

多肽抗原

多肽抗原需要通过化学合成来实现（多肽的合成是现代化工上一个比较成熟的技术，可委托专业化的公司来合成），合成抗原再偶联到蛋白质载体上才能形成大分子抗原，即完全抗原。常用的蛋白质载体主要有BSA（牛血清白蛋白）、RSA（兔血清白蛋白）、HSA（人血清白蛋白）、OVA（卵清蛋白）、GST（谷胱甘肽S转移酶）、KLH（Knoweyhole Limpet Hemocyanin，钥孔戚血蓝蛋白）、MAP（多价抗原肽，主要指多聚Lys）。对于多肽而言，偶联到载体上很容易，多肽链上的羧基/氨基通过EDC（碳二亚胺）或EDC/NHS（N-羟基琥珀酰亚胺）联用将多肽偶联到载体上。如果希望实现定向连接，在多肽合成时，N-端或C-端加上一个-SH(Cys)，通过Sulfo-SMCC试剂偶联到蛋白质载体上。

多肽抗原偶联到载体上一般要求多肽分子与载体分子偶联摩尔比要达到10:1~20:1。

多肽抗原与天然抗原或重组蛋白比较的优势在于抗原表位优势富集，更好刺激机体产生抗体。人工合成多肽制备抗原主要应用于抗原难以提取，或难于通过重组表达来实现的，或者蛋白抗原本身与机体内其他蛋白同源性过高的抗体制备。

多肽作为抗原主要难点在于多肽序列的设计（抗原表位的选取）。福因德生物专业化的多肽设计团队基于生物信息学的数据库，采用先进的分子对接算法，借助高性能服务器，可以实现百万级多肽的筛选，筛选周期仅需一周。

小分子抗原

小分子抗原是指小分子化合物，分子量一般都比较小；通常来说，分子量越大、结构越复杂越容易制备高亲和力的抗体，含有芳香环的小分子更容易引起免疫反应。同样，小分子化合物必须与载体蛋白偶联才能形成完全抗原作为免疫原，小分子化合物与载体偶联一般需要借助于中间体途径引入一些连接臂或者Linker然后再连接到蛋白质载体上，不能直接与其结构上的某个基团直接偶联，如果强行偶联势必改变抗原结构，所以通常是先借以合成中间体来制备完全抗原。

金属离子抗原

金属离子的免疫抗原一般是借助于整合剂来实现的，首先将整合剂偶联到蛋白载体上，比如BSA和OVA，然后再将离子螯合上去；吉林大学的郝亚明依靠该技术成功制备出镉离子（ Cd^{2+} ）单克隆抗体。

目前，制备金属离子单抗成功案例并不多，暨南大学的唐勇教授在这方面积累了很多，目前已经成功制备出汞离子（ Hg^{2+} ）、镉离子（ Cd^{2+} ）和铅离子（ Pb^{2+} ）等单克隆抗体，在环境污染检测方面已开发出胶体金和ELISA试纸条等快速检测产品。

对于此类抗原的制备方法,本书不做过多介绍,如感兴趣可与福因德技术团队共同探讨。

组织、全细胞或细胞组分抗原

如果我们需要制备细胞或者细胞器表面抗原的抗体，我们需要用组织、全细胞或者全细胞器进行免疫，免疫的时候我们尽量用完整的细胞。采用组织、全细胞或者细胞器免疫动物必须将细胞分离出来，并且越纯越好，尽量洗净血清和细胞碎片等。采用此方法免疫的主要优点在于：细胞具有完整的颗粒性和外源性，更容易刺激机体免疫，对于目的抗原来说其形态更趋于真实结构。免疫途径为：腹腔注射，注射细胞剂量为 1.0×10^5 以上。

对于细胞膜和细胞质作为抗原，提取方法一般是采用低渗溶液（低浓度的缓冲液加入 $MgCl_2$ ， $MgCl_2$ 主要用于稳定细胞核使其不破碎）。如果单纯的提取细胞膜可以采用 Ca^{2+} 匀浆离心法，离心后细胞膜沉淀下来；细胞器的提取主要是采用密度梯度离心法，对于密度非常相近的细胞器，需要更精确的密度梯度离心来实现，必要时可采用其他的辅助手段，具体案例具体分析。

全病毒颗粒抗原

全病毒作为抗原制备高免血清，一般需要先进行灭活处理，灭活的基本原理就是破坏病毒表面的囊膜成分，使其失去感染细胞或机体的能力，至于灭活的方法这里就不赘述，感兴趣可查阅相关文献。病毒颗粒作为抗原，其纯度当然是越纯越好，最好是用糖梯度密度离心方法纯化，尽量避免里面含有细胞碎片成分和培养基成分，有条件的可以在电镜下确认病毒颗粒。

细菌颗粒抗原

制备全细菌高免血清一般用于建立细菌凝集免疫学实验。所需细菌颗粒抗原尽量选择菌体状态良好（细菌表面及其附属物，如鞭毛保存完整）的。为了防止病原传播扩散，免疫前也需要灭活。免疫方法可以直接注射也可以与佐剂乳化之后再注射。用病原体（细菌或病毒）直接免疫制备的抗体效价一般不会太高，原因是机体面对病原体全部抗原/抗原表位“攻击”，免疫系统难以应付，针对每种抗原的抗体相对就更少。

抗原免疫注意事项

纯度问题

作为抗原，其纯度越高抗体的下游制备工艺会越简单：对于多抗来说，高免血清中针对目抗原的抗体分子越多更容易得到效价高、背景更低的抗体；对于单抗制备来说，就更容易筛选到特异性高效价的抗体分泌细胞株。

抗原毒性问题

作为抗原的物质，对动物机体毒性越小越好；毒性大，动物容易死亡或状态不好，很难产生出高品质抗体。实验者为了制备蛇毒蛋白的单抗，采用体外细胞免疫法（也叫细胞刺激免疫法）：把脾脏B淋巴细胞取出体外培养，加入刀豆素刺激的同时加入抗原刺激B淋巴细胞致敏反应。

抗原溶剂问题

抗原的溶剂一般选用PBS和生理盐水比较友好，但在抗原制备提纯的过程中不可避免的会引入一些去污剂[Triton, SDS或SKL（十二烷基肌氨酸钠）等]或其他有害化学试剂(如过量Tris等)。在免疫前这些物质不除去，动物免疫后会死亡，即使不死亡也会使动物机体受到剧烈刺激，免疫力严重下降。对于难溶蛋白（比如包涵体），可以溶解在低浓度尿素里面，因为动物可以耐受低浓度尿素。

佐剂问题

佐剂的选择也是抗体制备方案中非常重要的环节，目前最主流的还是弗氏佐剂，由Freund最先研发出来，主要是用矿物油和糖类，弗氏佐剂又分不完全佐剂和完全佐剂：不完全佐剂里面加入卡介苗就是完全佐剂，用于初次调动机体免疫系统机能；弗氏佐剂主要是将水溶性的抗原物质包裹其中，形成一个抗原缓释仓库，源源不断刺激机体产生免疫反应。

福因德生物技术团队开发出的Frdbio®水溶性佐剂，改变传统佐剂的思维模式，通过佐剂内高分子组分物理性吸附抗原达到缓释目的，同时含有可快速刺激免疫细胞分裂成分，双重效果助力抗体效价快速提升。由于其水溶性，不需要乳化，只要混匀即可免疫，减少乳化过程中浪费，对于珍稀抗原特别适合，其抗原使用量只为弗氏佐剂的1/5；同时对抗原的结构更为友好，特别适合于制备针对抗原构象的抗体。

抗原设计是抗体制备方案设计的核心，目前用于蛋白抗体制备的最常用的手段和方法是重组蛋白和多肽，而重组蛋白中最常用的是原核重组表达蛋白，因为其简单易操作，产量高，抗原表位暴露充分，蛋白性质稳定而倍受青睐。本书将以原核重组蛋白和多肽抗原设计及抗体制备、纯化、标记等为具体实例，具体阐述抗体制备的全过程。

