

单链抗体及纳米抗体研究整体解决方案

Anti-scFv 抗体 / Anti-VHH 抗体

满足单链抗体及纳米抗体的检测、纯化以及
CAR-T 细胞的表征和分离等需求



CONTENTS

简介 01

什么是 scFv ?

什么是 VHH ?

scFv 和 VHH 特点

scFv 和 VHH 应用

scFv 及 VHH 研究整体解决方案

应用 1 — 抗体发现 04

案例 1. 驼科 B 细胞克隆技术优化

应用 2 — 抗体高特异性纯化 05

案例 1. 驼科 VHH 抗体高特异性纯化

案例 2. 人源化 VHH 抗体高特异性纯化

应用 3 — 抗体功能鉴定 07

案例 1. 检测 scFv 或 VHH 对靶抗原的结合能力

案例 2. 检测 scFv 对靶细胞的结合能力

应用 4 — 病毒转导滴度测定 08

案例 1. Anti-scFv 抗体用于慢病毒转导滴度测定

应用 5 — CAR-T 细胞表征 09

案例 1. 基于 scFv 的 CAR-T 细胞的表征

案例 2. 基于 scFv 的 CAR-T 细胞表征工具比较

案例 3. 基于 VHH 的 CAR-T 细胞表征

案例 4. 基于 VHH 的 CAR-T 细胞定位

应用 6 — CAR-T 细胞分离 13

案例 1. 基于 VHH 的 CAR-T 细胞富集

应用 7 — 亲和配基残留检测 14

案例 1. AAVX 亲和配基残留检测

案例 2. AAV8、KappaXP、AVB 亲和配基残留检测

应用 8 — 药物的定量分析检测 15

案例 1. Sandwich ELISA 法检测 VHH

案例 2. Anti-VHH 抗体与其他物种无交叉性

产品选择指导 17

Anti-VHH 抗体系列产品性能 19

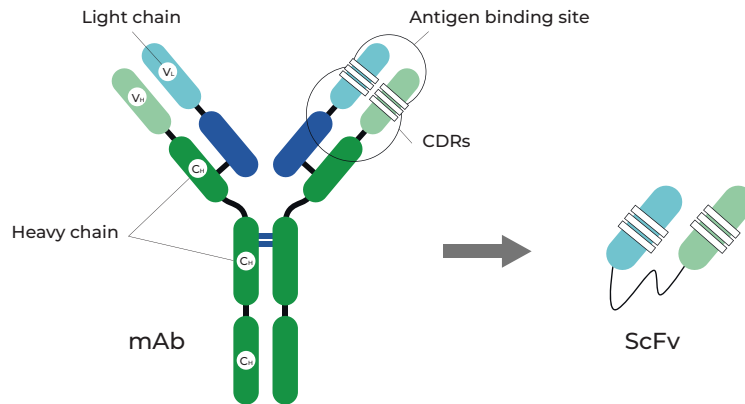
Anti-scFv 抗体系列产品性能 22

简介

单链抗体 (Single-Chain Fragment Variable, scFv) 和纳米抗体 (Nanobody) 均属于基因工程抗体, 由于此类抗体分子质量小, 穿透力强, 半衰期短, 免疫原性低, 因此在疾病预防、诊断、治疗等方面具有重要作用和广阔的应用前景。

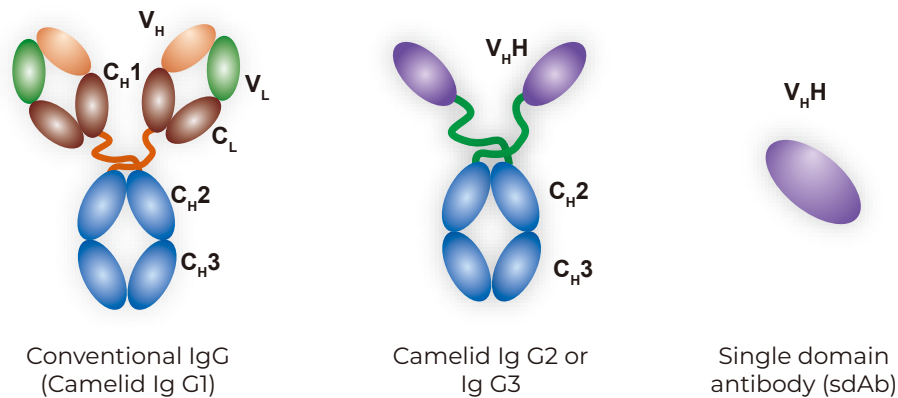
什么是 scFv?

如下图所示, 完整的抗体由两条重链和两条轻链构成, 通过人工改造, 可使用人工合成的连接肽基因将抗体重链可变区和轻链可变区连接成重组基因, 由该重组基因表达的抗体就称为单链抗体 (scFv), scFv 保留了完整的抗原结合活性。



什么是 VHH?

美洲驼、羊驼和骆驼等驼科动物家族会产生两种不同类型的 IgG 抗体。一类是由两条重链和两条轻链组成的常规 IgG1 抗体 (MW~150 kDa)。另一种类型包括 IgG2 和 IgG3 (MW~90 kDa), 它们缺少轻链以及重链的一个恒定结构域 (CH1 结构域)。这些抗体通常被称为重链抗体 (HCAb)。HCAb 的可变域称为单域抗体, 也称为 sdAb 或 VHH。VHH 分子量大小仅普通抗体的 1/10, 约 12-15 kDa, 因此又被叫做纳米抗体。纳米抗体被认为是最小的完整抗原结合片段。



scFv 和 VHH 特点

scFv 和 VHH 虽然都属于基因工程小分子抗体, 在应用上具有相似之处, 但在结构和理化性质上却有显著不同, 具体性质对比见下表。

性质	scFv	VHH
大小	28-35 kDa	12-15 kDa
血液半衰期	<1h	<<1h
来源	小鼠、大鼠等	驼科
开发时间	较短	较长
水溶性	水溶性较好 (+)	水溶性好 (+++)
聚集	易聚集	几乎不聚集
稳定性	稳定性中等 (+)	稳定性优 (++)
耐极端环境	不耐高温或极端pH	在高温和极端pH下保持稳定
组织穿透性	组织穿透性强 (++)	组织穿透性更强 (+++)
亲和力	亲和力高 (+)	亲和力更高 (++)
生产成本	低	更低
工程化改造	较容易改造 (+)	极容易改造 (+++)
表位多样性	与传统抗体一致	可提供新的表位
隐藏表位识别	较难识别隐藏表位	可识别隐藏表位
表达体系	原核、酵母、哺乳动物	原核、酵母、哺乳动物

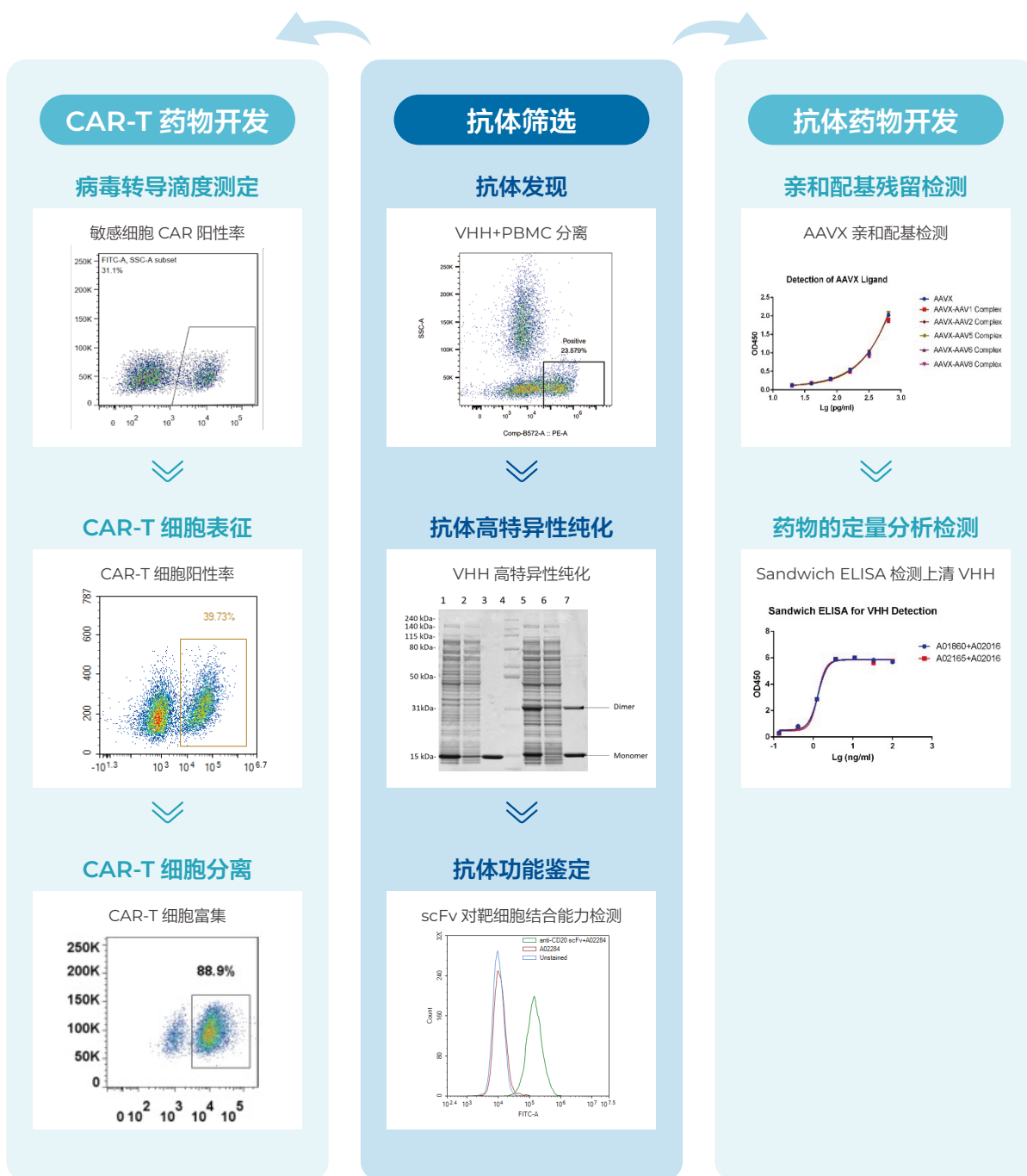
*“+”代表该描述项的程度, “+”越多表明程度越高。

scFv 和 VHH 应用

scFv 和 VHH 具有分子质量小、穿透力强、制备周期短、结构简单、易于工程化改造等优点, 在免疫治疗、影像诊断、药物递送、病毒感染、生物监测、生物传感器、基础研究工具等领域被广泛使用。随着对 scFv 和 VHH 研究的不断深入, 相信在不久的将来, scFv 和 VHH 将凭借自身的优势, 在医学、农业、工业等领域发挥更巨大的应用。

scFv 及 VHH 研究整体解决方案

scFv 和 VHH 具有非常广阔的应用前景，受到越来越多的研究机构和制药公司的关注。为支持 scFv 和 VHH 药物领域的研究，金斯瑞率先提出了 scFv 及 VHH 研究整体解决方案。我们提供了一整套 scFv 及 VHH 研究工具试剂，涵盖了 scFv 及 VHH 研究的各个环节，包括从抗体发现、纯化、功能鉴定到慢病毒转导滴度测定，以及最终的 CAR-T 细胞表征与分离、亲和配基残留检测和药物的定量分析检测等（如下图所示），旨在为研究人员提供全面的支持，助力您在 scFv 及 VHH 研究中取得成功。

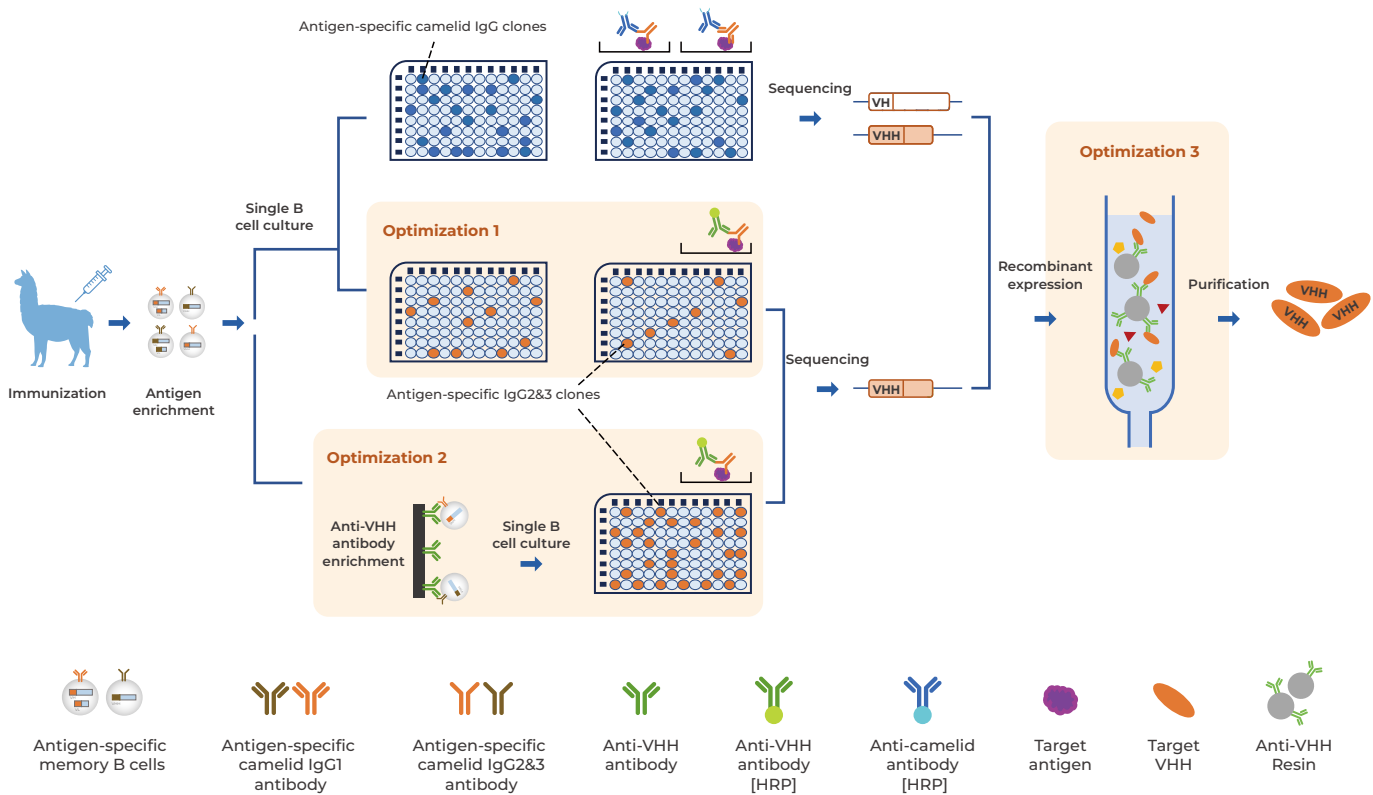


应用 1 — 抗体发现

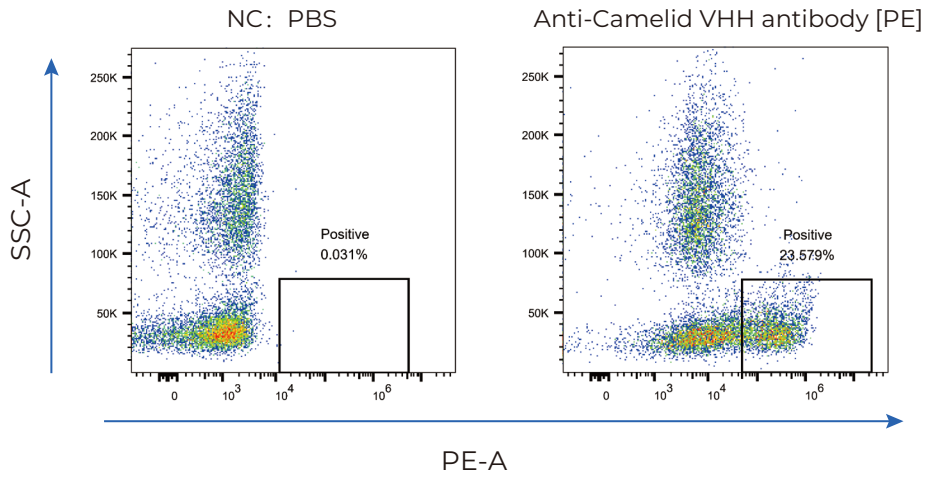
scFv 和 VHH 抗体发现主要通过噬菌体展示技术和 B 细胞克隆技术。在 VHH 抗体发现过程中，由于驼科动物中存在传统双链抗体，因此会对 VHH 抗体的筛选存在干扰，一定程度上降低了 VHH 抗体发现的效率。而 Anti-VHH 抗体可以高特异性地富集 VHH+ 细胞和特异性检测 VHH 抗体的表达，因此可以有效助力 VHH 抗体的发现。

案例 1. 驼科 B 细胞克隆技术优化

在使用 B 细胞克隆技术筛选 VHH 抗体时需要考虑非 VHH 序列的干扰，目前主要是通过额外的铺板和测序以提高获得目标 VHH 序列的概率。而 Anti-VHH 抗体则可以通过富集 VHH+B 细胞优化这一过程。通过该抗体富集得到的 B 细胞均只分泌 VHH 抗体，因此可以极大地降低铺板工作量，节约成本，并提高筛选到目标 VHH 的效率。此外，Anti-VHH 抗体还可作为阳性克隆筛选阶段的检测抗体，以确保得到的阳性克隆均为 VHH 亚型。



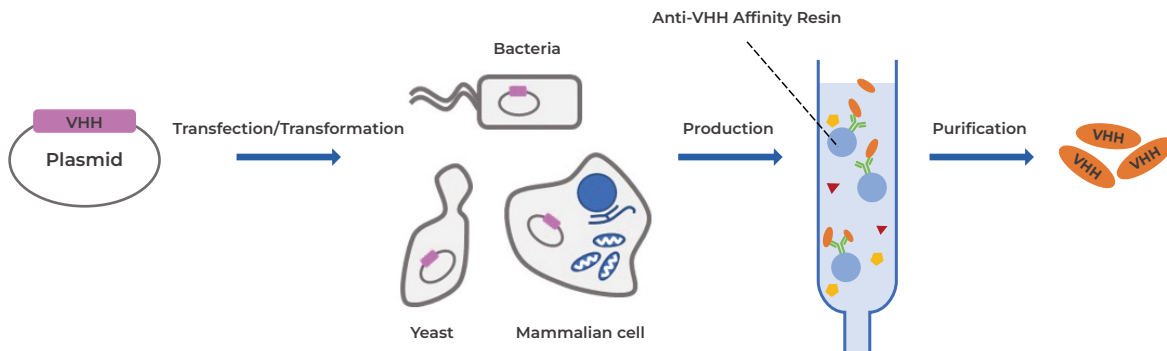
案例数据 — 分选表达 VHH 的 PBMC



FACS 分选非免疫骆驼中 VHH+PBMCs。抗体采用 2 μ g MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail [PE] (GenScript, A02018)。结果如图所示，VHH+PBMC 的数量约为 23.579%，与理论值一致。表明 A02018 对 VHH+PBMC 具有较高的特异性，可用于 VHH+PBMC 的分选。

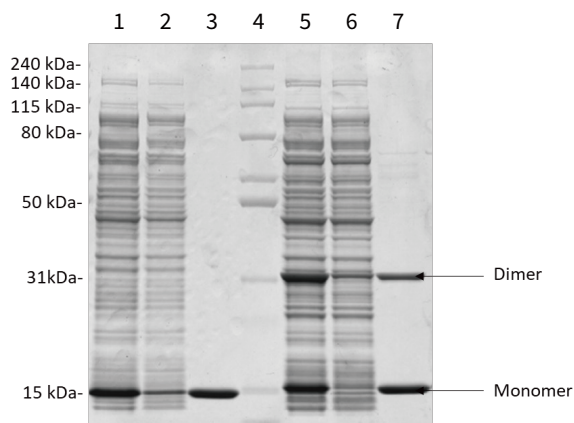
应用 2 — 抗体高特异性纯化

在研究 VHH 性能时，需要先对 VHH 进行纯化。VHH 的纯化可通过亲和层析进行，但是目前常用的手段是通过引入 Fc 或 His 等标签，并使用 Protein A 或 Ni 柱等纯化。然而该方案引入的 tag 为后期 VHH 药物的开发带来了潜在的风险。另外为了降低潜在的免疫反应，提高安全性，用于人体的 VHH 药物常常需要进行人源化改造，这也为 VHH 的纯化引入了新的挑战。基于 Anti-VHH 抗体原料开发的纯化介质，可以简单、高效地以不依赖 tag 的方式从常用的蛋白质表达系统（如细菌、酵母和哺乳动物细胞）中纯化骆驼科 VHH 和人源化 VHH，是 VHH 药物临床前研究的理想工具。



VHH 纯化示意图

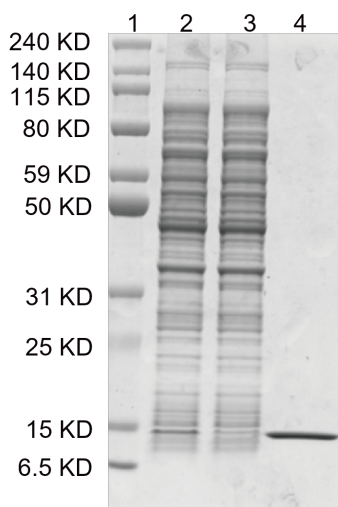
案例 1. 驼科 VHH 抗体高特异性纯化



Lane 1: 1# Camelid VHH whole cell lysate
Lane 2: 1# Flow through
Lane 3: Eluate 1# Camelid VHH with L00905
Lane 4: Broad Multi Color Pre-Stained Protein Standard (GenScript, M00624)
Lane 5: 2# Camelid VHH whole cell lysate(wih Dimer)
Lane 6: 2# Flow through
Lane 7: Eluate 2# Camelid VHH with L00905

使用 MonoRab™ Anti-Camelid VHH Affinity Resin (GenScript, L00905) 从 *E.coli* 裂解液中纯化驼科 VHH#1 和 VHH#2 蛋白。结果显示该产品可以高特异性地纯化单体和二聚体的驼科 VHH。

案例 2. 人源化 VHH 抗体高特异性纯化



Lane 1: Broad Multi Color Pre-Stained Protein Standard (GenScript, M00624)
Lane 2: Whole cell lysate
Lane 3: Flow through
Lane 4: Eluate of target Humanized VHH single domain antibody-1

使用 MonoRab™ Anti-Humanized VHH Affinity Resin FF (GenScript, L00951) 从 *E. coli* 裂解液中纯化人源化 VHH#1 蛋白。结果显示该产品可以高特异性地纯化人源化 VHH。

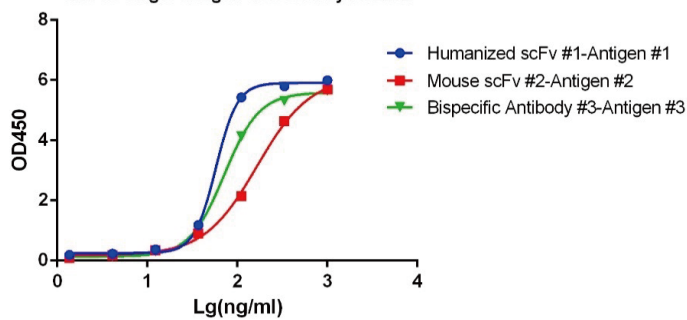
应用 3 — 抗体功能鉴定

抗体的结合活性是其功能的基础，因此在 scFv 或 VHH 药物开发过程中，需要检测 scFv 或 VHH 对其靶点抗原的结合。此外，在 scFv 或 VHH 抗体筛选的过程中，其结合活性也是最为重要的指标之一。金斯瑞的 anti-scFv 抗体和 anti-VHH 抗体可通过不依赖 Tag 的方式检测 scFv 或 VHH,从而加快 scFv 或 VHH 抗体药物的研发进程。

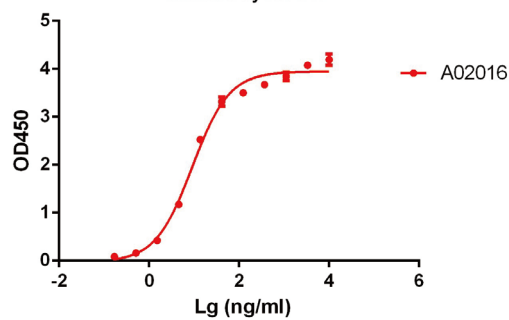
案例 1. 检测 scFv 或 VHH 对靶抗原的结合能力

如下图所示，Anti-scFv 抗体可用于检测人源化 scFv、鼠源 scFv 和双特异性抗体对其靶蛋白的结合能力 (图 A); anti-VHH 抗体可用于检测 VHH 对其靶蛋白的结合能力 (图 B)

A Binding curve between scFv/bispecific antibody and its target antigen detected by A02282



B Binding curve between VHH and its target antigen detected by A02016



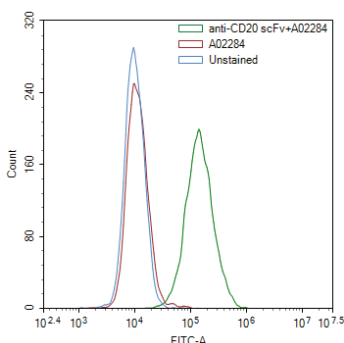
A. 使用 anti-scFv 抗体检测 scFv 对其靶抗原的结合能力，靶点及 scFv 信息如下：

Humanized scFv#1:anti-VEGF scFv; Antigen#1:VEGF; Mouse scFv#2: anti-BCMA scFv; Antigen#2: BCMA; Bispecific Antibody#3: anti-CD19×anti-CD3, BiTE; Antigen#3: CD3.

B. 使用 anti-VHH 抗体 A02016 检测 anti-HIV p24 VHH 对其靶抗原 HIV p24 的结合能力。

案例 2. 检测 scFv 对靶细胞的结合能力

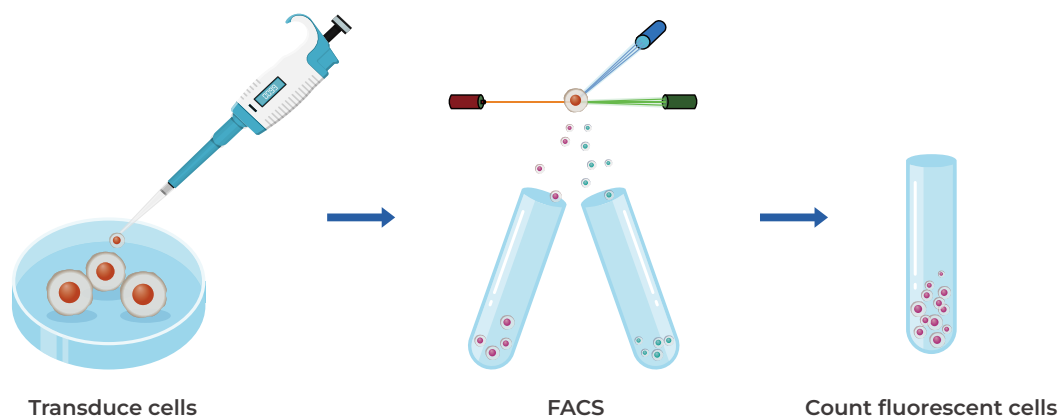
在 scFv 或基于 scFv 的双特异抗体药物研发过程中，若靶点为细胞表面蛋白，还需检测其与细胞的结合能力，以作为其活性的基础。流式细胞术结果显示 Anti-scFv 抗体对结合 scFv 的细胞表现出较高的特异性信号，对未结合 scFv 的细胞表现出较低的非特异性信号，因此可用于检测 scFv 对其靶细胞的结合能力。



使用 MonoRab™ Rabbit Anti-scFv Cocktail [FITC](GenScript, A02284) 分析 anti-CD20 抗体对 Raji 细胞的结合能力。其中蓝色实线代表未染色细胞，红色实线代表仅加入 A02284 的细胞，绿色实线代表加入 anti-CD20 scFv 和 A02284 的细胞。

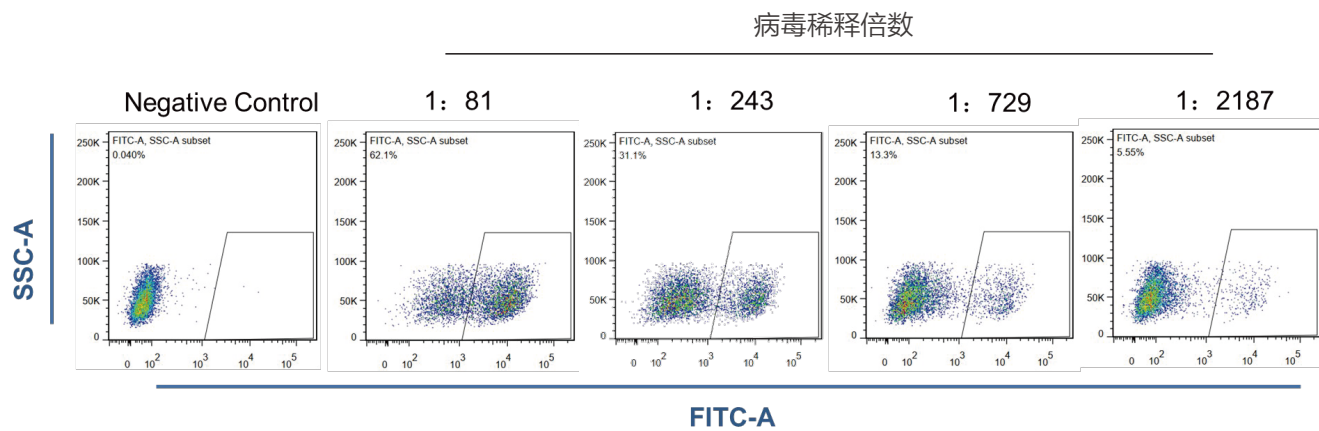
应用 4 — 病毒转导滴度测定

目前 scFv 和 VHH 最为广泛的应用是在细胞治疗中作为 CAR 的抗原识别结构域，赋予 T 淋巴细胞特异性识别靶细胞表面抗原的能力，以发挥细胞特异性的细胞毒性。慢病毒在 CAR-T 细胞治疗的过程中扮演着重要的角色，而慢病毒滴度测定是评估慢病毒质量和功能的关键步骤之一。由于慢病毒载体不具有复制能力，因此不能通过常规的细胞病变法进行病毒滴度的测定，而通常采用对细胞转导的能力作为病毒载体的滴度，即将病毒载体转导敏感细胞系或原代细胞后，检测细胞 CAR 表达阳性率或 CAR 基因拷贝数，计算其转导滴度 (TU/ml)。



案例 1. anti-scFv 抗体用于慢病毒转导滴度测定

将携带有 CAR 基因的慢病毒进行梯度稀释，并用于感染敏感细胞系 HEK-293 细胞，获得表达 CAR 的 HEK-293 细胞，该 CAR 的抗原识别结构域为 scFv。随后使用 FITC 标记的 anti-scFv 抗体 (GenScript, A02284) 通过流式细胞术检测 CAR 的阳性率 (即荧光细胞占总细胞的百分比)，并根据病毒稀释倍数和感染的阳性细胞数计算病毒转导滴度。结果显示不表达 CAR 的细胞与表达 CAR 的细胞可以进行很好的分群，表明 anti-scFv 抗体可以检测慢病毒转导滴度。



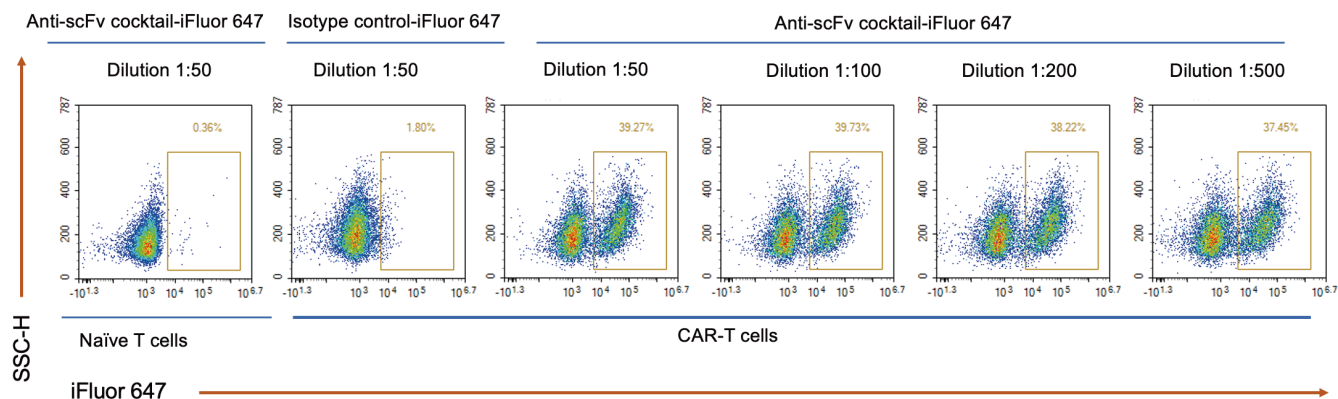
根据公式: (CAR 阳性细胞比例 * 总细胞数 * 病毒稀释倍数) / (病毒体积)，计算该慢病毒转导滴度为 2.19E+08 TU/mL

应用 5 — CAR-T 细胞表征

在细胞治疗领域,细胞表面 scFv 或 VHH 的表达水平作为表征 CAR-T 细胞阳性率的主要方式,其检测非常重要。2018 年 6 月,中国食品药品检定研究院发布了《CAR-T 细胞治疗产品质量控制检测研究及非临床研究考虑要点》,文件明确提出 CAR-T 细胞的阳性率检测是细胞产品生产质控的重要指标。CAR-T 疗法的有效性和安全性是评估 CAR-T 细胞最基本的性能之一,在体内真正发挥肿瘤杀伤作用的有效成分是 CAR 阳性 T 细胞,因此无论是临床前实验阶段,还是临床应用阶段,CAR 阳性率的检测都是 CAR-T 重要的质量控制基石。除了各级生产中的质量控制,临床试验和上市后的随访需要了解患者缓解时间、CAR-T 在体内的扩增和存活能力等多方面的细胞活性结果,作为产品持久性评价指标。而这同样依赖对体内有效 CAR 结构数量和强度的评估。因此,CAR-T 细胞产品从临床前研究到上市后的随访,都离不开对 CAR 上 scFv 或 VHH 的检测。

案例 1. 基于 scFv 的 CAR-T 细胞的表征

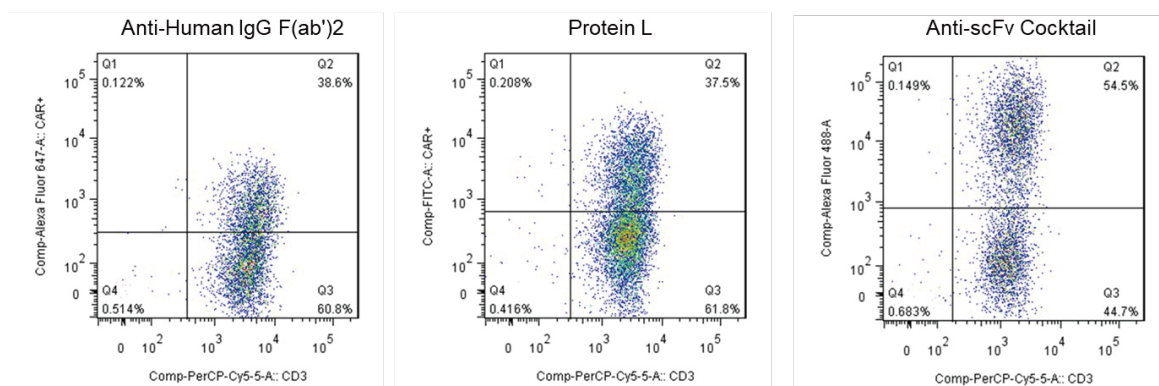
金斯瑞的 Anti-scFv 抗体对基于 scFv 的 CAR-T 细胞表现出超高的特异性。实验结果显示不同稀释比例的 Anti-scFv 抗体均能准确检测 CAR-T 细胞的阳性率,且该抗体对未被编辑的 T 细胞表现出极低的非特异性结合,因此可用于 CAR-T 细胞的表征。



使用不同稀释比例 (1: 50-1: 500) 的 MonoRab™ Rabbit Anti-scFv Cocktail [iFluor 647] (GenScript, A02288) 检测相同的 CAR-T 细胞。MonoRab™ Rabbit IgG Control [iFluor 647] (Whole Molecule), mAb (GenScript, A02026) 对 CAR-T 细胞的染色以及 A02288 对 naive T 细胞的染色作为阴性对照。

案例 2. 基于 scFv 的 CAR-T 细胞表征工具比较

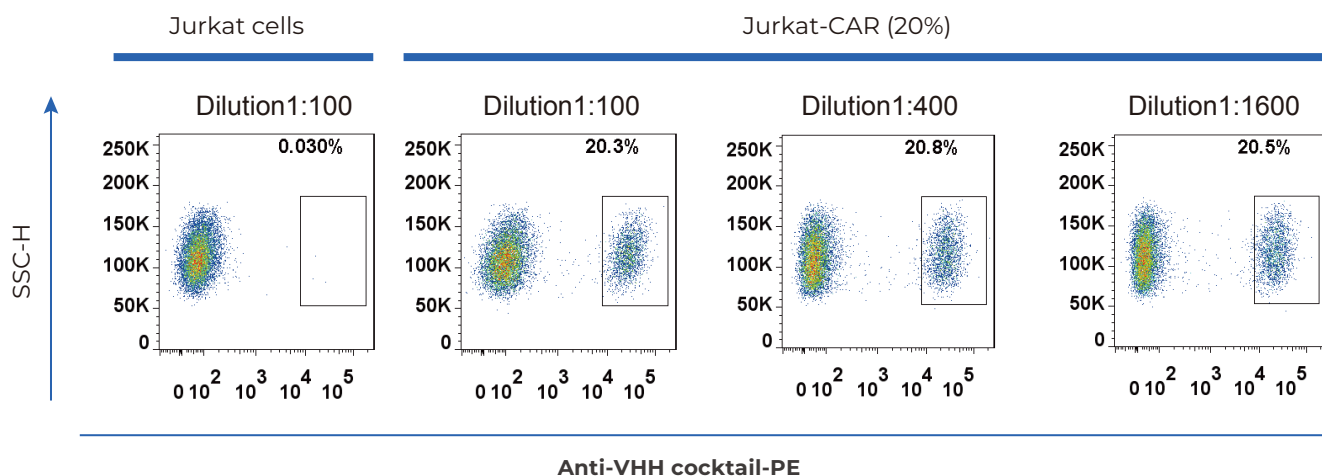
目前市面上有多种用于 CAR-T 细胞表征的工具，如针对 κ 轻链的 Protein L，以及针对 Fab 片段的 anti-Fab 抗体，但是这些方法均为兼顾 scFv 的检测，而非特异性针对 scFv 的检测手段。金斯瑞的 MonoRab™ 兔抗 scFv 抗体是专属于 scFv 的抗体，在 scFv 的检测及 CAR-T 细胞的表征上具有更广泛的应用。流式细胞术结果显示 anti-scFv 抗体相比于 Protein L 和 anti-Fab 抗体具有更优的细胞分群效果和更高的检出率。



使用相同浓度的 MonoRab™ Rabbit Anti-scFv Cocktail (GenScript, A02282)、FITC-Labeled Recombinant Protein L 和 Alexa Fluor® 647 AffiniPure Goat Anti-Human IgG, F(ab')₂ 检测相同数量和结构的 CAR-T 细胞。其中，Anti-scFv 抗体的荧光信号由 Alexa Fluor® 488-Labeled Goat Anti-Rabbit IgG 提供。

案例 3. 基于 VHH 的 CAR-T 细胞表征

GenScript Anti-VHH 抗体对胞外域为 VHH 的 CAR-T 细胞表现出超高特异性，不同稀释比例的抗体均能够准确检测出样品中 VHH CAR-T 细胞的数量。



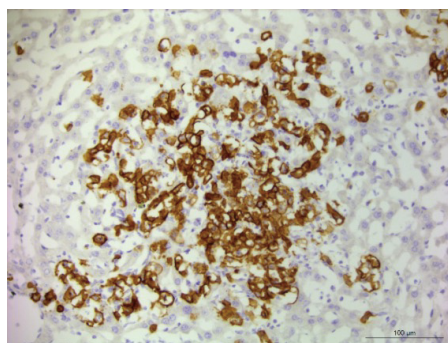
FACS 检测不同稀释比例的 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail [PE] (GenScript, A02018) 对 Jurkat 细胞 (包含 20% 基于 VHH 的 Jurkat-CAR 细胞) 的结合活性。结果显示 A02018 特异性结合基于 VHH 的 Jurkat-CAR 细胞，可用于 CAR-T 细胞的确认和检测。

案例 4. 基于 VHH 的 CAR-T 细胞定位

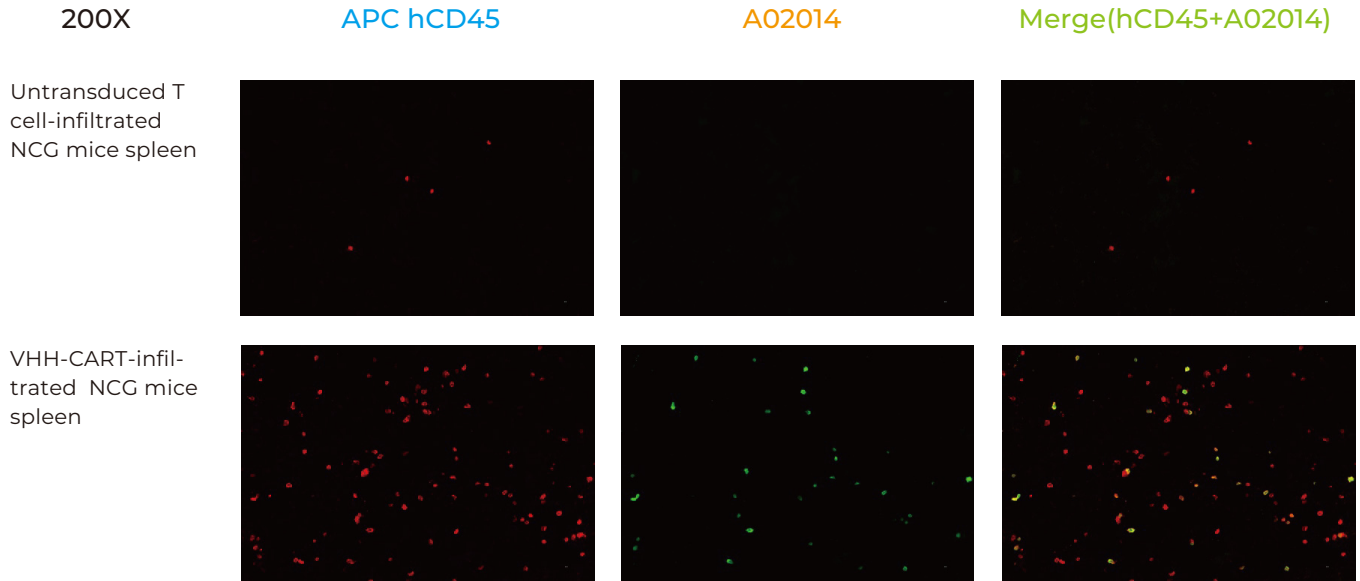
虽然 CAR-T 细胞疗法在治疗某些类型的癌症方面取得了成功，例如晚期白血病，但其在治疗实体瘤方面的疗效仍然有限。主要原因是 CAR-T 细胞无法通过实体瘤的物理屏障。为了优化 CAR-T 细胞以获得更大的疗效，检测 CAR-T 细胞在组织中的分布非常重要。此外，CAR-T 细胞的分布为预测可能的不良反应提供了必要的信息。

GenScript MonoRab™ Anti-Camelid VHH Cocktail 可特异性结合浸润在 NCG 小鼠脾脏和 PDX 小鼠肝脏中的 VHH 转导 CAR-T 细胞，通过免疫荧光和免疫组化分析可检测组织中 CAR-T 细胞的分布。

VHH-CART infiltrated liver



免疫组化分析浸润在 PDX 小鼠肝组织中的转导 VHH 的 CAR-T 细胞。一抗使用 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014)，二抗使用 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的生物素标记的 Anti-Rabbit IgG (H+L)，最终的信号扩增使用 ABC (亲和素 - 生物素复合物) 试剂盒，使用苏木精进行复染。结果显示浸润在肝组织的转导 VHH 的 CAR-T 细胞的细胞膜或细胞质上可以观察到阳性信号。

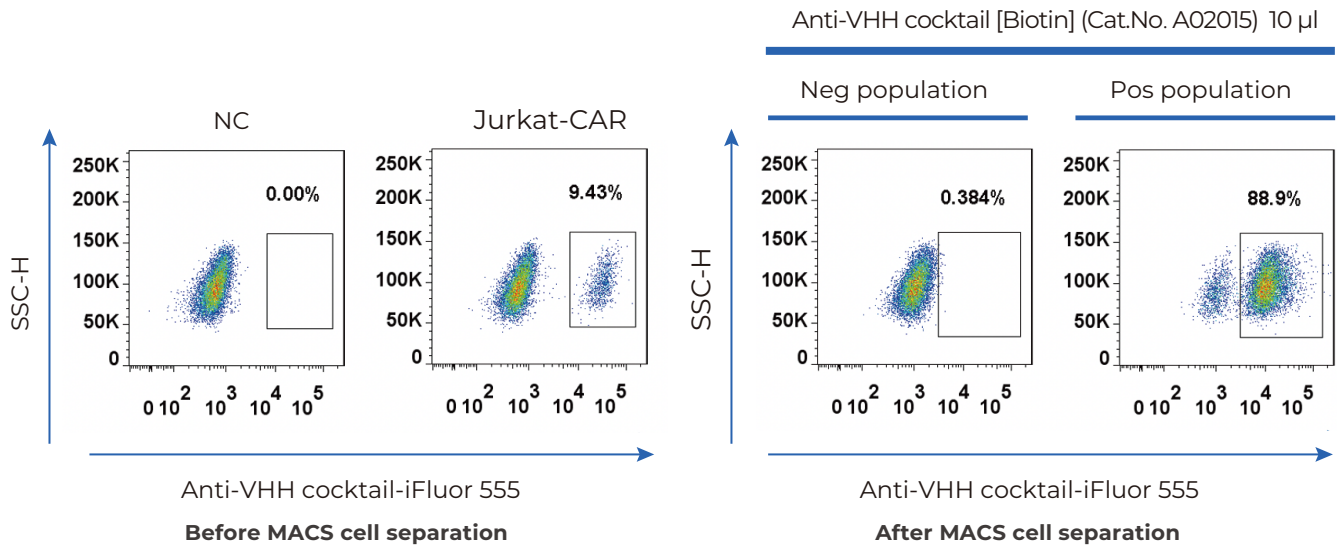


免疫荧光分析浸润在 NCG 小鼠脾组织中的转导 VHH 的 CAR-T 细胞。一抗使用 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014), 二抗使用 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Anti-Rabbit IgG (H+L) [Alexa Fluor 488] (绿色)。0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ APC 标记的 hCD45 单抗用于检测所有注射的 T 细胞 (红色)。共聚焦图像显示浸润在 NCG 小鼠脾组织中转导 VHH 的 CAR-T 细胞的细胞质中表现出阳性信号。未转导的浸润 T 细胞表现出阴性信号。

应用 6 — CAR-T 细胞分离

在细胞治疗中，真正发挥肿瘤杀伤作用的有效成分是 CAR 阳性 T 细胞，通过基因修饰获得的 CAR-T 细胞比例并不能总是达到预期效果，尤其在非病毒载体感染中，CAR 的阳性率会更低。因此需要对 CAR-T 细胞进行富集，获得高阳性率的 CAR-T 细胞后再进行扩增，以达到最佳的治疗效果。

案例 1. 基于 VHH 的 CAR-T 细胞富集



FACS 检测 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail [Biotin] (GenScript, A02015) 和 anti-Biotin 磁珠 (Miltenyi) 通过 MACS 技术对基于 VHH 的 CAR-T 细胞的分选效果。

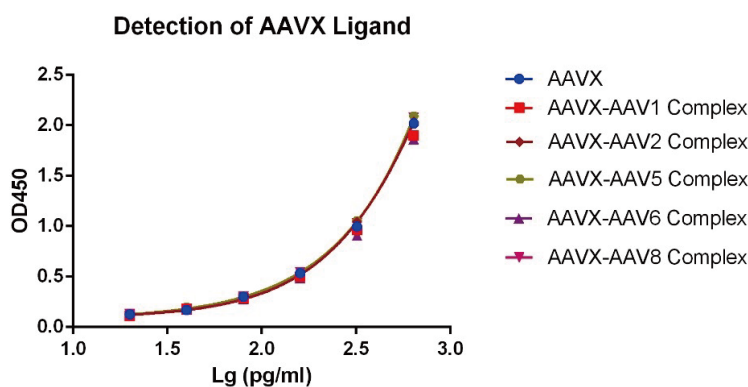
其中 naïve T 细胞作为阴性对照，FACS 分析的检测抗体采用 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail [iFluor 555] (GenScript, A02020)。如图所示，在使用 MACS 细胞分离后，阳性 CAR-T 细胞的比例从 10% 提高到 90%，表明 A02015 是 CAR-T 细胞 MACS 分离的理想工具。

应用 7 — 亲和配基残留检测

亲和层析是利用偶联亲和配基的亲和吸附介质为固定相，亲和吸附目标产物，使目标产物得到分离纯化的液相层析法。VHH 作为新一代纯化配基具有诸多优势，包括高特异性、高亲和力、结构稳定、高载量等。Thermo 推出了 CaptureSelect™ 系列产品，均是以 VHH 作为亲和配基，目前已广泛应用于抗体、蛋白、酶、AAV 等的纯化。在当纯化后的产物用于人体治疗时，为了避免配基脱落引起的风险，需要检测纯化产品中亲和配基的残留。而金斯瑞作为唯一一家拥有 VHH 单抗的企业，其基于高性能 anti-VHH 抗体开发的 VHH Affinity Ligand ELISA kit，能够检测多种 VHH 配基残留，在保证高灵敏的同时，最大的控制批间差。

案例 1. AAVX 亲和配基残留检测

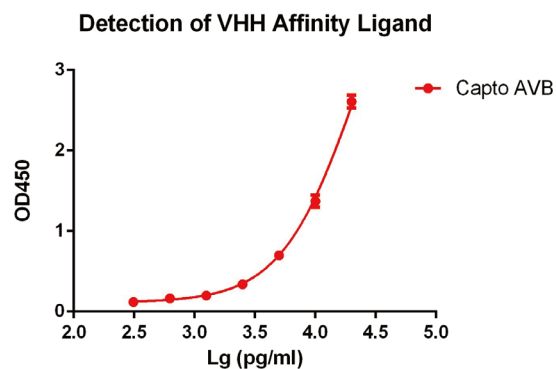
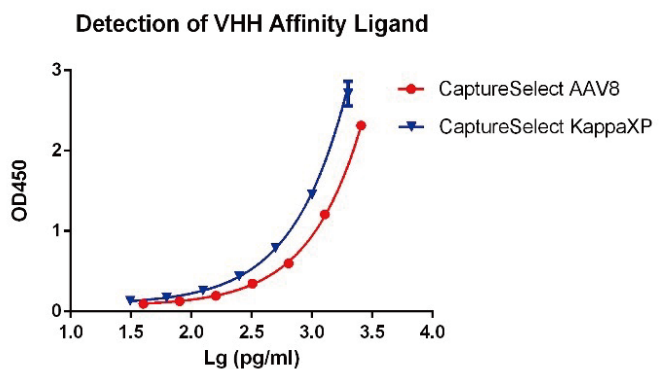
亲和层析纯化是 AAV 纯化的主流工艺之一，由于 POROS™ CaptureSelect™ AAVX Affinity Resin (Thermo, A36739) 可结合包括 AAV1 到 AAV8 和 AAVrh10 在内的多种 AAV 血清型，因此被较为广泛的应用于 AAV 纯化。AAV 作为基因治疗的主要载体，后续会直接应用于人体，因此检测 AAV 样本中 AAVX 亲和配基的残留是非常必要的。金斯瑞的 VHH Affinity Ligand ELISA kit 中已包含 AAVX 标准品，对 AAVX 的灵敏度高达 20 pg/mL，且在 AAVX 与 AAV 形成复合物后，相比于单独检测 AAVX，各浓度点的 CV < 10%，因此该产品可用于 CaptureSelect™ AAVX 亲和配基的残留检测。



将 AAV1、AAV2、AAV5、AAV6 和 AAV8 分别加入到 AAVX 中形成复合物后，检测 VHH Affinity Ligand ELISA kit (GenScript, L01033) 对 AAVX 和 AAVX-AAV 复合物标准曲线的一致性。

案例 2. AAV8、KappaXP、AVB 亲和配基残留检测

VHH Affinity Ligand ELISA kit 除了可以用于 CaptureSelect™ AAVX 残留的检测，还能够应用于 CaptureSelect™ AAV8、CaptureSelect™ KappaXP 和 Capto AVB 等其他亲和配基残留的检测，灵敏度分别达到 40 pg/mL、31.25 pg/mL 和 312.5 pg/mL，因此 VHH Affinity Ligand ELISA kit 是检测 VHH 亲和配基残留的理想工具。

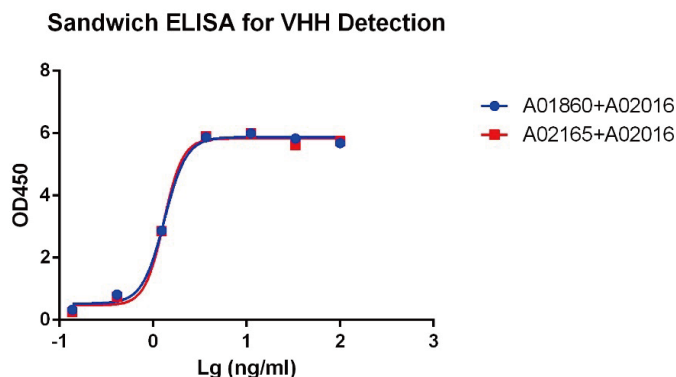


VHH Affinity Ligand ELISA kit 检测 CaptureSelect™ AAV8 、CaptureSelect™ KappaXP 和 Capto AVB 标准曲线图。

应用 8 — 药物的定量分析检测

在临床前早期阶段的一些筛选性 PK 研究中，考虑到节约时间、成本以及抗独特型抗体短时间内难以获得等因素，通常使用 anti-human IgG Fc 抗体检测非人种属的 PK 样品。但由于纳米抗体缺乏 Fc 片段，该方案在纳米抗体的 PK 检测上并不适用。GenScript 的 Anti-VHH 抗体已被验证对人、兔、鼠、羊等多种物种的 IgG 不存在交叉反应，因此除了临床早期阶段用于筛选纳米抗体的 PK 研究外，还可以在在一定程度上取代抗独特型抗体检测纳米抗体药物在人体的代谢。

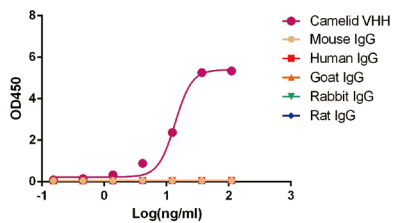
案例 1. Sandwich ELISA 法检测 VHH



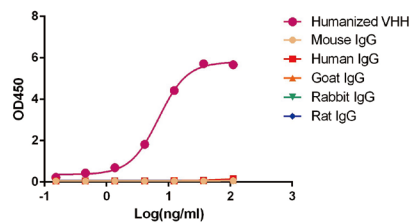
VHH 夹心 ELISA 标准曲线。使用 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH (GenScript, A01860) 或 MonoRab™ Rabbit Anti-Humanized VHH (GenScript, A02165) 作为捕获抗体，MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail [HRP] (GenScript, A02016) 作为检测抗体，灵敏度最高可达 137 pg/mL。

案例 2. Anti-VHH 抗体与其他物种无交叉性

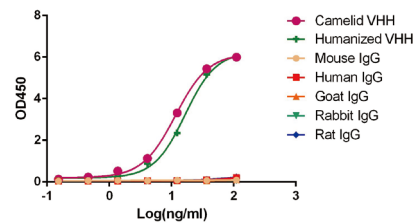
Cross reactivity of A01860 with IgG of different species



Cross reactivity of A02165 with IgG of different species



Cross reactivity of A02014 with IgG of different species



MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH (GenScript, A01860) 特异性结合驼科 VHH; MonoRab™ Rabbit Anti-Humanized VHH Antibody, mAb (GenScript, A02165) 特异性结合人源化 VHH; MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014) 特异性结合驼科和人源化 VHH。三种 Anti-VHH 抗体对小鼠、大鼠、兔、山羊和人 IgG 没有交叉性,可在多种基质中用于药物的定量分析检测。

产品选择指导

金斯瑞的 Anti-VHH 抗体产品包含两组高特异性单克隆抗体和一组广谱检测 VHH 的单克隆抗体混合物，Anti-scFv 抗体包含一组广谱检测 scFv 的单克隆抗体混合物和一组与不同种属 IgG 低交叉的单克隆混合物。产品选择广泛，可满足不同种属 scFv 和 VHH 的检测需求。此外，还提供多种偶联物及衍生产品，以满足实验设计的不同要求。

Anti-VHH 和 anti-scFv 抗体列表

Product Type		Species Specificity	Unconjugated	Conjugated						
				HRP	Biotin	iFluor 488	iFluor 555	iFluor 647	PE	FITC
Anti-VHH antibody	Anti-Camelid VHH, mAb	Llama, Camel, Alpaca	A01860	A01861	A01995	A01862	A01863	A01994	A02227	A02226
	Anti-Humanized VHH, mAb	Humanized, Llama, Camel, Alpaca	A02165	A02167	A02166	A02168	A02169	A02170	A02171	A02172
	Anti-Camelid VHH, mAb Cocktail	Humanized, Llama, Camel, Alpaca	A02014	A02016	A02015	A02021	A02020	A02019	A02018	A02017
Anti-scFv antibody	Anti-scFv Antibody Cocktail	Humanized, Mouse	A02282	A02289	A02283	A02286	A02287	A02288	A02285	A02284
	Anti-scFv Antibody Cocktail (Min X)	Humanized, Mouse		A02306	A02303	A02304		A02305	A02315	
Application										
Flow cytometry			✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
Western blot / Dot blot			✓	✓	✓					
ELISA			✓	✓	✓					
Immunohistochemistry			✓	✓	✓					
Immunofluorescence			✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
Cell sorting			✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓

Anti-VHH 和 Anti-scFv 抗体衍生产品列表

货号	名称
L00905	MonoRab™ Anti-Camelid VHH Affinity Resin
L00946	MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Antibody Plate (Clear, 8×12 strip)
L00951	MonoRab™ Anti-Humanized VHH Affinity Resin FF
L01008	MonoRab™ Rabbit Anti-VHH Microbeads
L01033*	VHH Affinity Ligand ELISA kit
L01034	MonoRab™ Anti-VHH Affinity Magnetic Beads

*L01033 VHH Affinity Ligand ELISA kit 中已包含 CaptureSelect™ AAVX 标准品, 如需检测 Capto AVB、CaptureSelect™ AAV8 或 CaptureSelect™ KappaXP, 则需要单独购买标准品 AVB Affinity Ligand Standard (GenScript, Z03794)、AAV8 Affinity Ligand Standard(GenScript, Z03795) 或 KappaXP Affinity Ligand Standard (GenScript, Z03796)

相关产品列表

Product	Unconjugated	Conjugated						
		HRP	Biotin	iFluor 488	iFluor 555	iFluor 647	PE	FITC
Mouse Anti-Human IgG Fab Antibody (12H3C4A6), mAb		A01855						
protein L		M00098	M00097	M00921		M00922		M00920
Mouse Anti-Human IgG Fc Antibody (50B4A9), mAb	A02257	A01854						
Streptavidin	Z02043	M00091						
MonoRab™ Rabbit IgG Control (Whole Molecule), mAb	A02022			A02028	A02027	A02026	A02025	
Human Kappa Light Chain (2F1C1), mAb, Mouse	V06801							
Human Lambda Light Chain (2D54), mAb, Mouse	V06901							

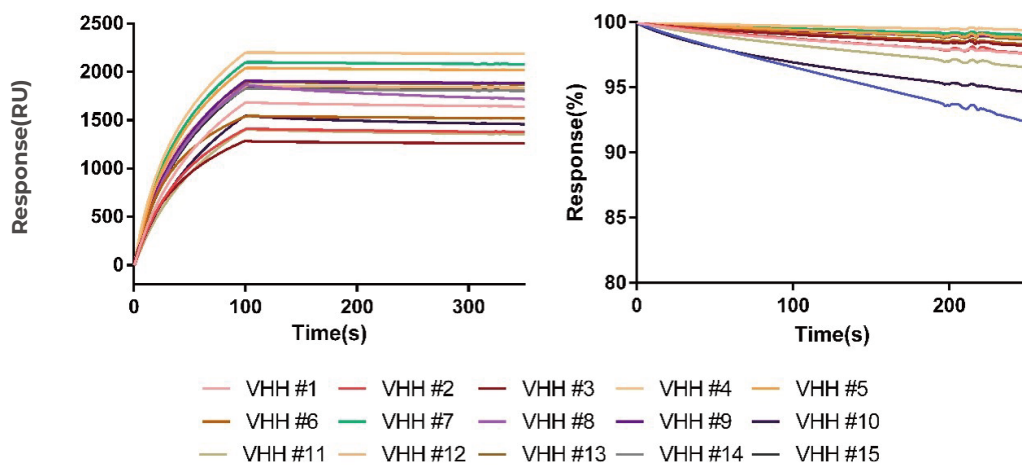
Anti-VHH 抗体系列产品性能

性能总结

Antibody	Anti-Camelid VHH, mAb	Anti-Humanized VHH, mAb	Anti-Camelid VHH, mAb Cocktail
Products	A01860, A01861, A01995, A01862, A01863, A01994, A02226, A02227	A02165, A02167, A02166, A02168, A02169, A02170, A02171, A02172	A02014, A02016, A02015, A02021, A02020, A02019, A02018, A02017
Binding compatibility	★ ★	★ ★	★ ★ ★
Affinity to certain VHH	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★
Specificity to Humanized VHH	★	★ ★ ★	★ ★
Specificity to Camelid VHH	★ ★ ★	★	★ ★
VHH Discovery	★ ★	★	★ ★ ★
Detection and analysis of certain VHH	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★

MonoRab™ 技术保证高亲和力 $K_d \approx 10^{-11}$ M

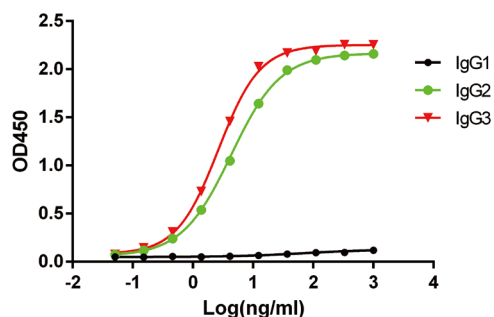
The Affinity of A02014



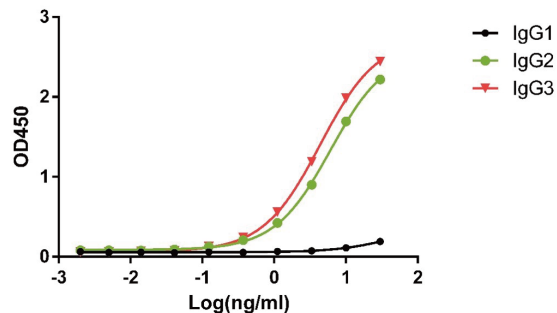
Biacore 结果显示 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014) 与 15 种随机序列的 VHHs 具有较高的亲和力。

亚型特异性—仅结合重链抗体

ELISA binding of A01860 with different subclasses camelid IgG



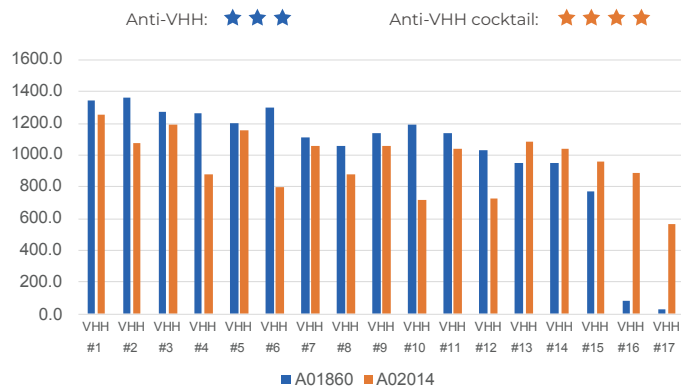
ELISA binding of A02014 with different subclasses camelid IgG



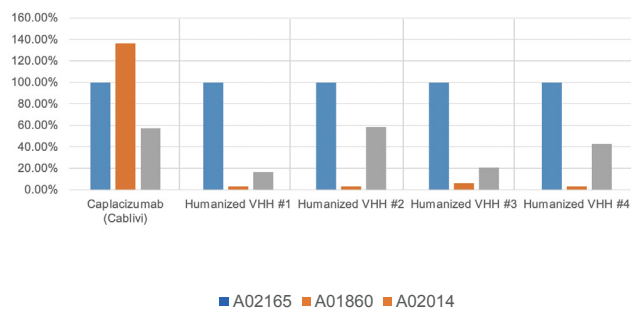
MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH (GenScript, A01860) 和 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014) 特异性结合驼科重链抗体 (IgG2&3) 的可变区, 而不识别具有传统抗体结构的 IgG1 亚型。

高通用性

Binding Compatibility with Camelid VHHs

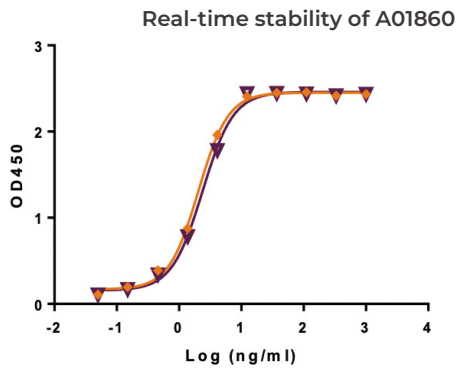


Binding Compatibility with Humanized VHHs

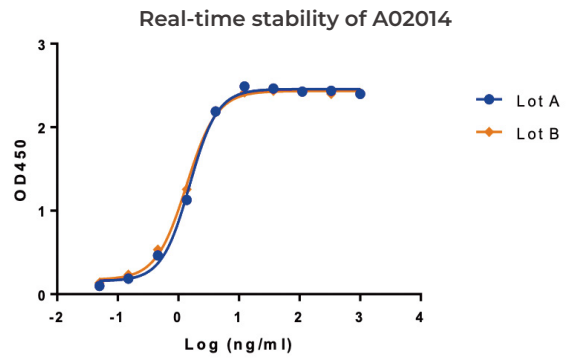


MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Antibody, mAb (GenScript, A01860) 对驼科 VHH 的识别通用性较好, MonoRab™ Rabbit Anti-Humanized VHH Antibody, mAb (GenScript, A02165) 对人源化 VHH 识别通用性较好, MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014) 对驼科和人源化 VHH 识别通用性均较好。

高稳定性



- Lot A was produced in 2018
- Lot B was produced in 2020

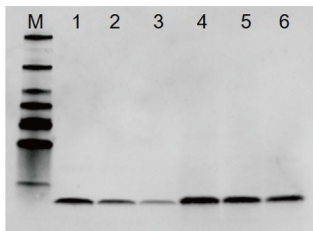


- Lot A was produced in 2019
- Lot B was produced in 2021

MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH (GenScript, A01860) 和 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014) 至少能在两年内保持稳定。

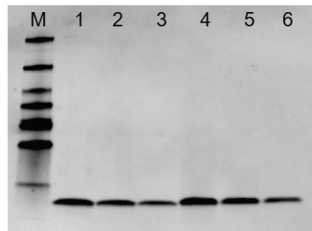
高灵敏度

Western Blot of A01860 with VHHs



VHH #1 (ng):	100	50	25	-	-	-
VHH #2 (ng):	-	-	-	100	50	25

Western Blot of A02014 with VHHs



VHH #1 (ng):	100	50	25	-	-	-
VHH #2 (ng):	-	-	-	100	50	25

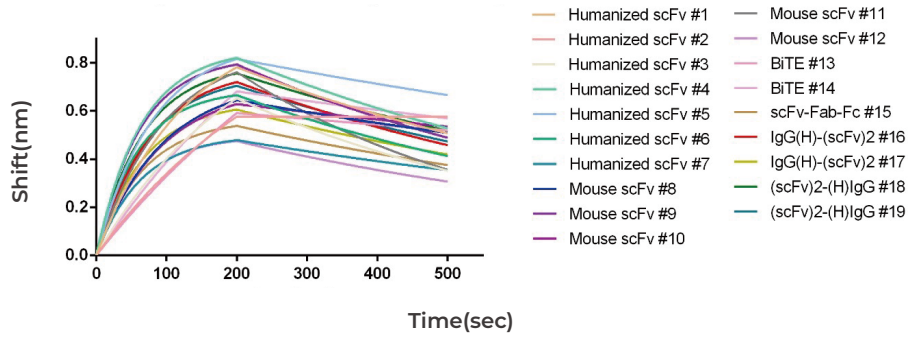
Lane 1: VHH #1 100 ng
Lane 2: VHH #1 50 ng
Lane 3: VHH #1 25 ng
Lane 4: VHH #2 100 ng
Lane 5: VHH #2 50 ng
Lane 6: VHH #2 25 ng

WB 结果显示 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH (GenScript, A01860) 和 MonoRab™ Rabbit Anti-Camelid VHH Cocktail (GenScript, A02014) 两种抗体对 VHH 具有较高的灵敏度。

Anti-scFv 抗体系列产品性能

MonoRab™ 技术保证高亲和力

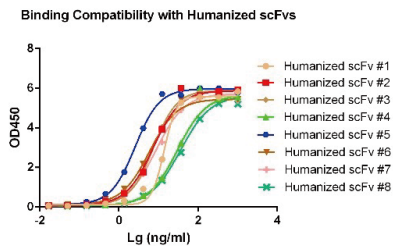
The Affinity of A02282 with scFv/Bispecific Antibody



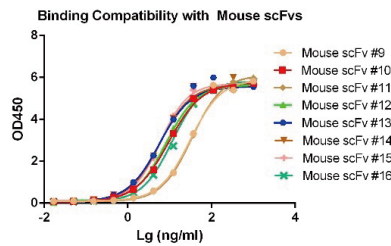
生物膜干涉技术 (BLI) 结果显示 anti-scFv 抗体对不同来源、不同连接顺序 (VH-VL 或 VL-VH) 的 scFv 以及不同形式的基于 scFv 的双特异性抗体具有较高的亲和力。

高适用性

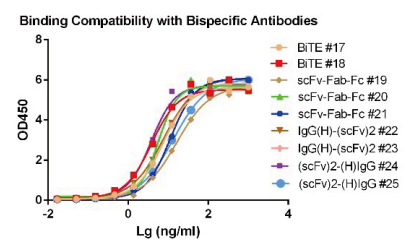
Binding Compatibility with Humanized scFvs



Binding Compatibility with Mouse scFvs

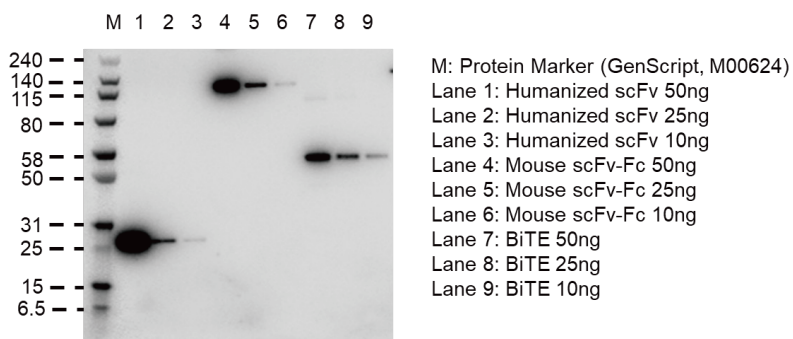


Binding Compatibility with Bispecific Antibodies



ELISA结果显示MonoRab™ Rabbit Anti-scFv Cocktail (GenScript, A02282) 可特异性识别不同来源、不同连接顺序 (VH-VL或 VL-VH) 的scFv以及不同形式的基于scFv的双特异性抗体, 如BiTE, IgG(H)-(scFv)2, (scFv)2-(H)IgG, scFv-Fab-Fc等。

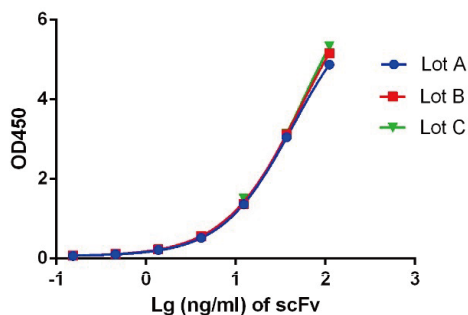
高灵敏度



WB 结果显示 MonoRab™ Rabbit Anti-scFv Cocktail (GenScript, A02282) 对不同来源 scFv 及双特异性抗体 BiTE 均具有较高的灵敏度。

高批次稳定性

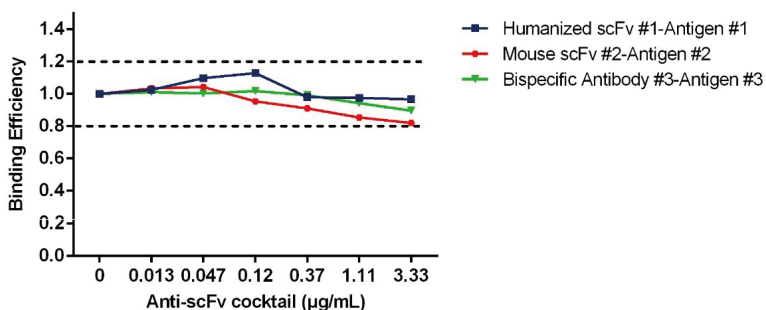
Lot-to-lot consistency of Anti-scFv Cocktail



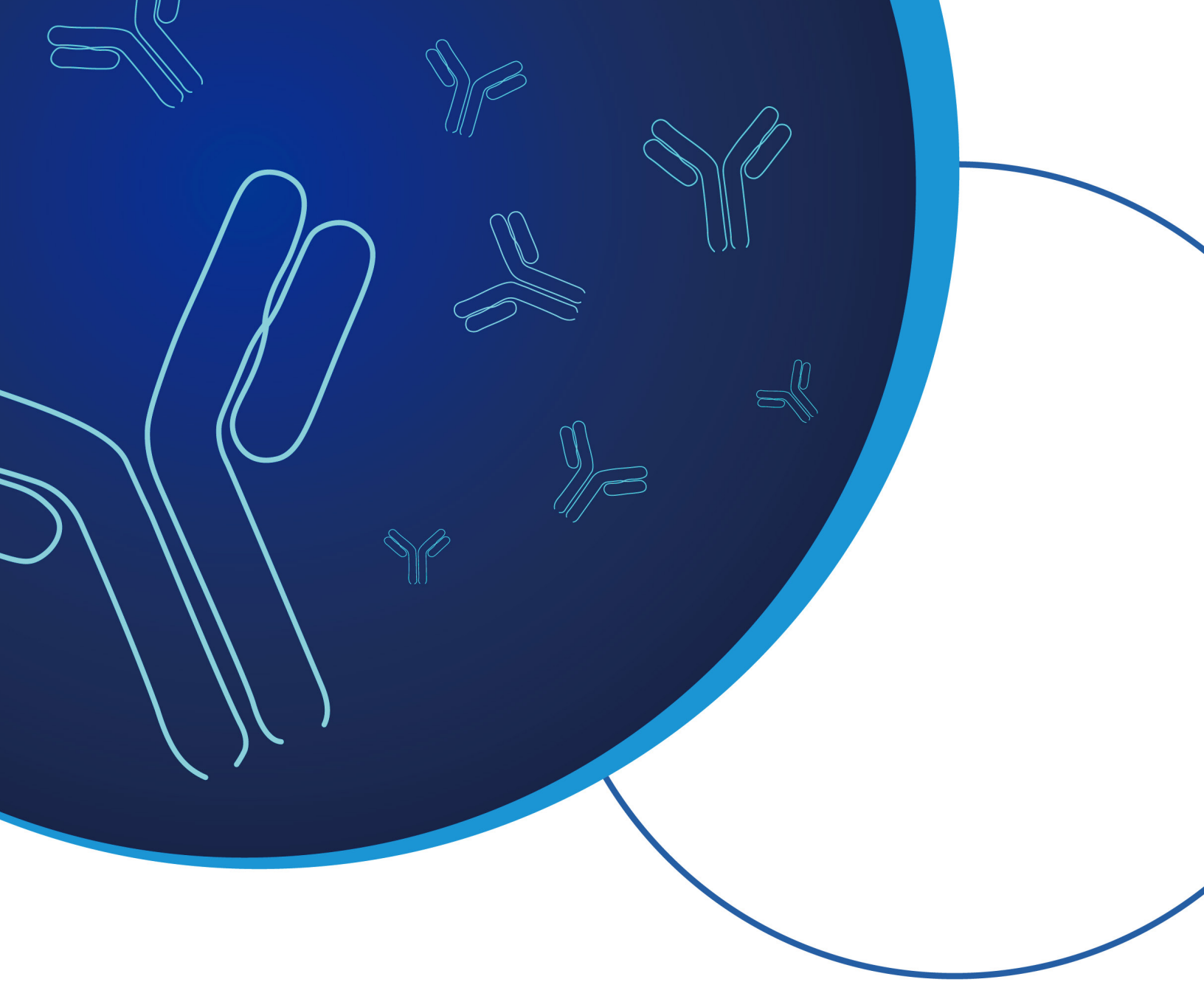
三批次 MonoRab™ Rabbit Anti-scFv Cocktail (GenScript, A02282) 对 scFv 表现出一致的结合曲线, 各浓度点 CV<10%。

非抗原结合阻断

Binding efficiency between scFv/bispecific antibody and its target antigen



竞争 ELISA 结果显示 Anti-scFv 抗体在与 scFv 的结合后并不影响 scFv 对其靶抗原的结合。



Contact Us

地址：江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
邮编：211100
传真：025-58897288-5815
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810
Email: product@genscript.com.cn



请扫描上方二维码
关注视频号



关注金斯瑞产品
开启实验新旅程