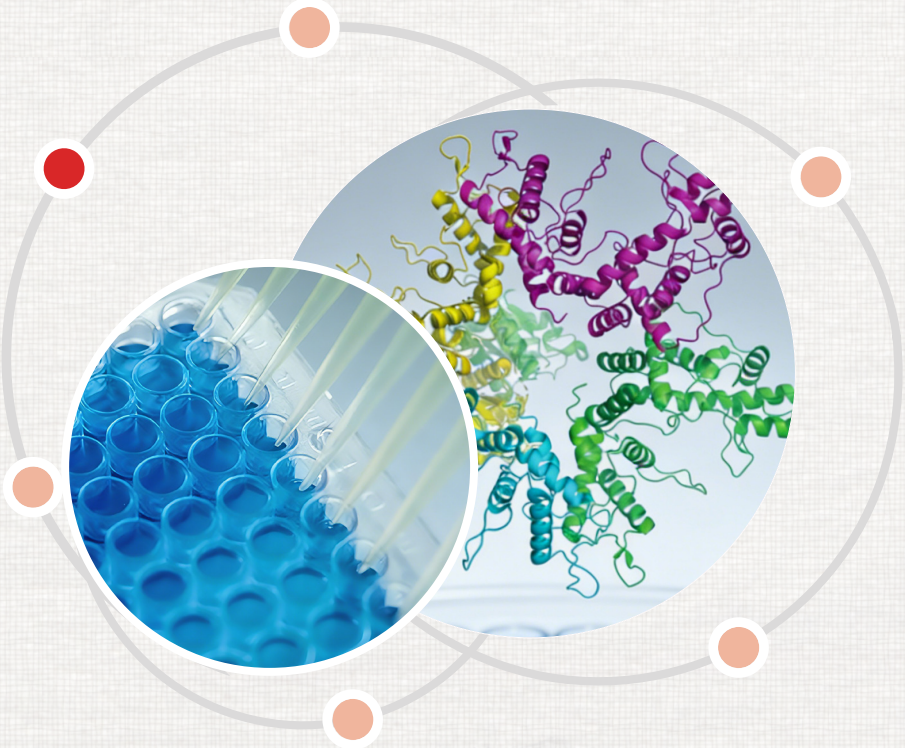
愚公生物 Yugong Biotech | 百时美 BestEnzymes

无细胞蛋白合成（CFPS）解决方案

赋能 AIDD，加速设计 - 验证闭环



ISO 13485 质量管理体系认证　专精特新　GMP

为什么选择 CFPS？

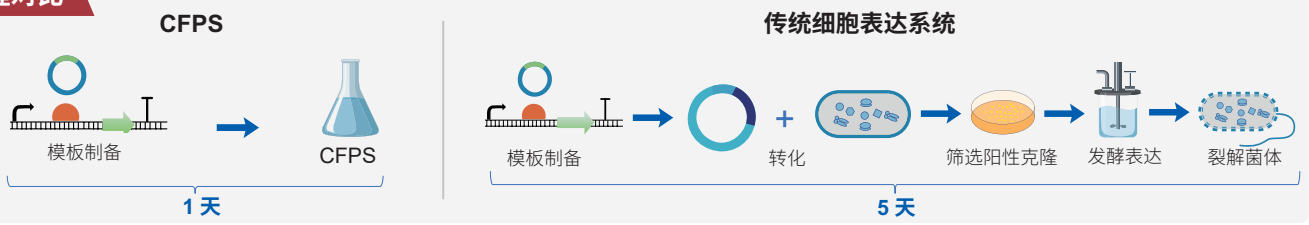
突破传统细胞内表达技术瓶颈，重构蛋白合成效率与灵活性

- 规避细胞内表达的天然限制
- 提升蛋白合成的可控性与灵活性
- 大幅缩短实验周期，提升高通量能力

CFPS vs 传统细胞表达系统

对比项	CFPS	传统细胞表达系统
耗费时间	1~2 h 即可表达出目的蛋白 8~16 h 即可达到最大量	细胞培养、转化、诱导、裂解等步骤繁琐，时间数天到数周
特殊蛋白表达	可表达各种类型的蛋白，包括毒性蛋白、富含二硫键蛋白或难溶蛋白	毒性蛋白、富含二硫键蛋白或难溶蛋白表达困难
操作便捷性	简单快捷，开盖即用，仅需加入 DNA 或 RNA 模板	对实验条件和操作技能要求高
应用灵活性	可使用 96 孔板或离心管进行反应，高通量筛选；修饰等更灵活	难以实现高通量表达和筛选

流程对比



产品特性

- **快速表达**

  1~2 小时出目标蛋白，8~16 小时达产量峰值

- **灵活高效**

  μL 到 L 级，可实现高通量筛选

- **特殊蛋白专属**

  高效表达有细胞毒性、富含二硫键（如 VHH）、难溶类蛋白

- **开放体系**

  满足同位素标记、非天然氨基酸掺入等特殊需求

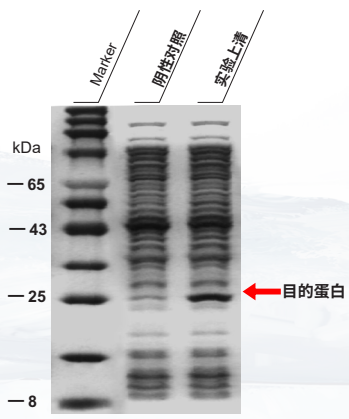
- **广谱兼容**

  支持环状质粒、线性 DNA、mRNA 多模板，适配 T7 启动子系统

性能展示

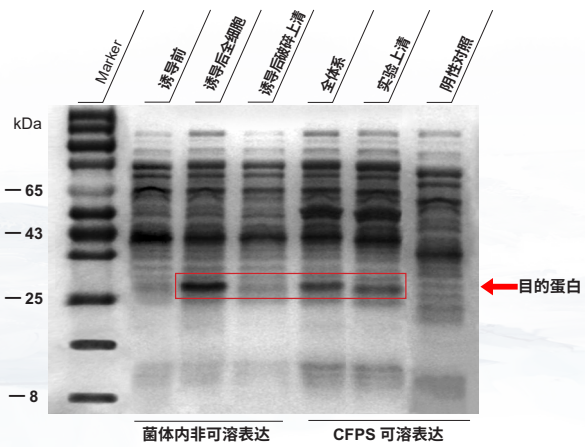
• 毒性蛋白

某限制性内切酶



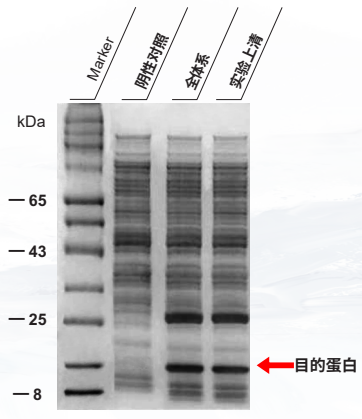
• 难溶蛋白

某易形成包涵体蛋白



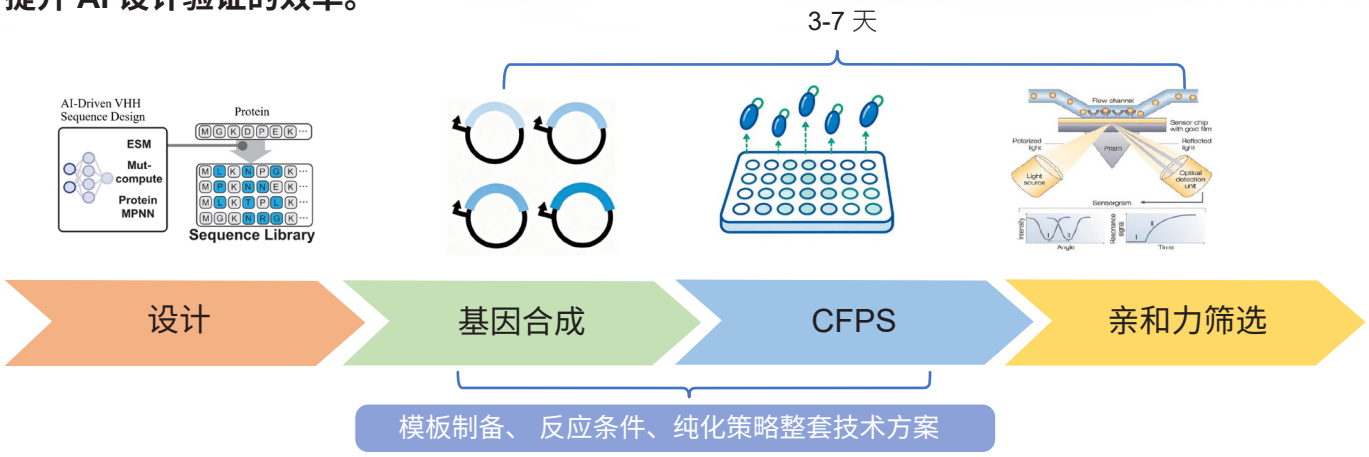
• 二硫键含量丰富蛋白

某荧光素酶



AI 赋能纳米抗体发现 · 高通量 VHH 体外表达

愚公生物已针对纳米抗体（VHH，Variable Domain of Heavy-Chain Antibody）开发了标准化 CFPS 试剂盒和解决方案：无需转化、培养和克隆筛选，序列直接转化为可检测蛋白，大幅提升 AI 设计验证的效率。

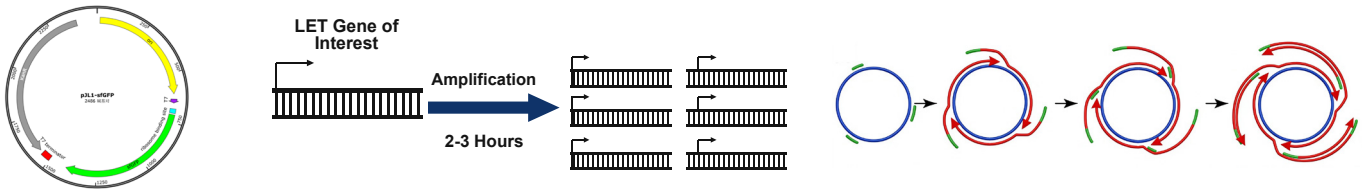


基于 CFPS 的 VHH 高通量筛选方案

性能展示

多种模板形式，均可直接表达

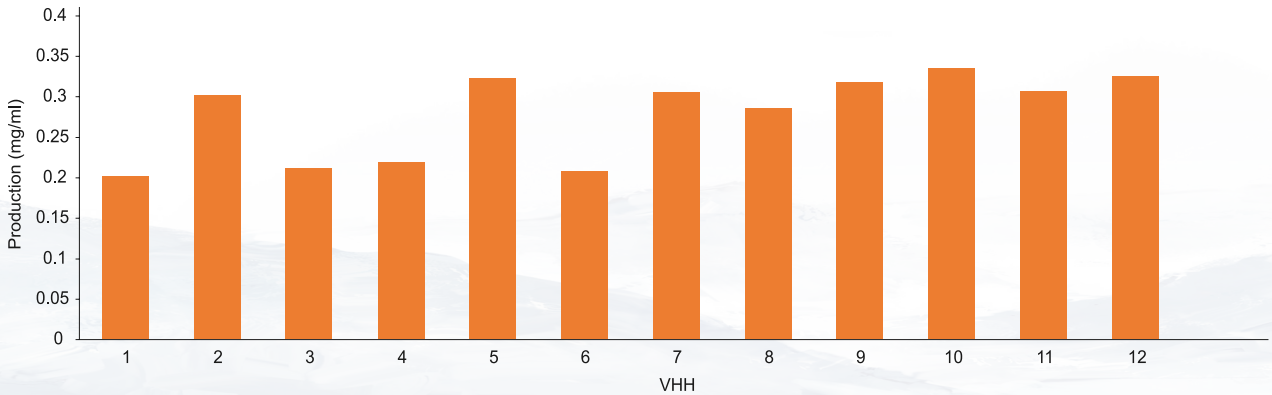
CFPS 体系兼容性强，质粒、PCR 线性产物、RCA 滚环扩增产物均可作为表达模板，无需繁琐的克隆转化步骤。少量起始模板即可快速获得足量表达材料，适配 VHH 的体外高通量筛选与变体验证等多种需求。



质粒　　PCR 产物　　RCA 产物

表达成功率高

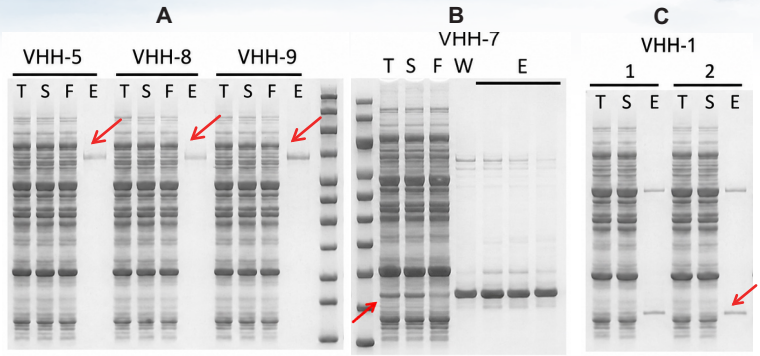
选取文献报道的 12 株 VHH，以 PCR 线性产物为模板，在愚公生物 CFPS 体系中 12/12 成功可溶性表达；产量半数 ≥0.3 mg/mL。



多株 VHH 变体在 CFPS 体系中的表达产量检测

不同磁珠纯化路径验证

愚公生物验证了三条适用于CFPS-VHH 的磁珠纯化路径:His 标签(Ni-NTA)、VHH-Fc 融合(Protein A)与 Strep-tag Ⅱ标签。SDS-PAGE 结果显示三条路径均可有效富集目标蛋白,可按构建形式选择。



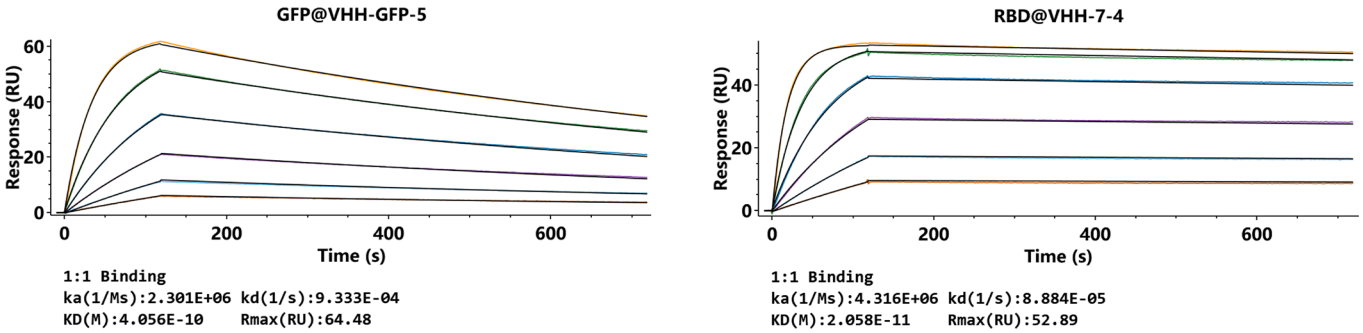
T：全体系　S：上清　F：流穿　W：洗涤　E：洗脱

A：构建 VHH-Fc 融合蛋白，使用 Protein A 磁珠纯化结果

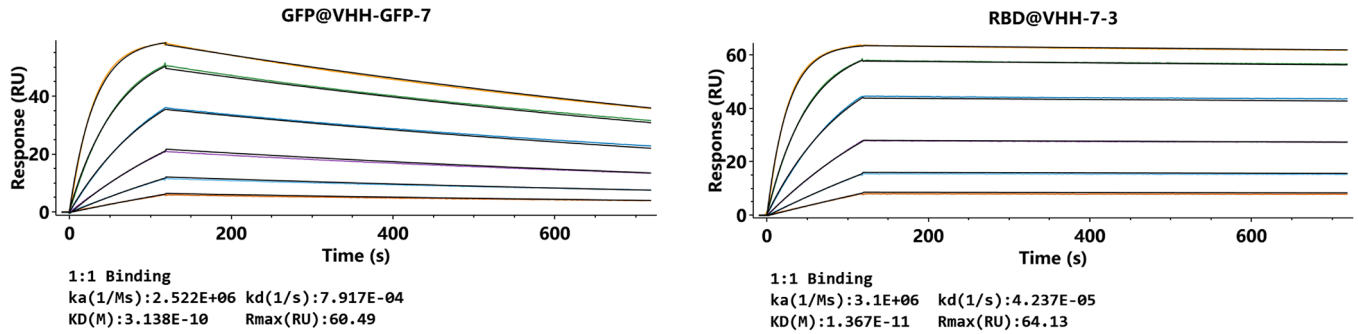
B：构建 His 标签，使用 Ni-NTA 磁珠纯化结果

C：构建 Strep II 标签，使用 Strep II 磁珠纯化结果

CFPS 的 VHH 产物直接进入 SPR 平台亲和力测试



Twin-Strep-tag 标签 VHH 的 SPR 结合——解离曲线



Fc 标签 VHH 的 SPR 结合——解离曲线

适用范围

- AI 设计候选验证
- 快速将计算筛选序列批量转化为可检测蛋白，获得下一轮设计所需的实验反馈。
- VHH 序列与构建优化
- 抗体发现服务
- 将基因模板制备、CFPS 与亲和力检测连接成连续流程。
- 比较不同候选、标签和 Fc 融合形式的表达及结合表现。

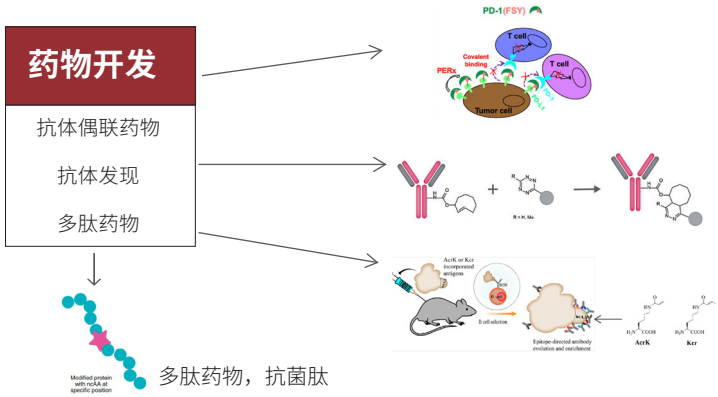
拓展蛋白研发边界，实现非天然氨基酸精准掺入

非天然氨基酸（Non-Canonical Amino Acids, ncAA）

广义指非天然存在的、人工合成的氨基酸。一般特指在标准 20 种氨基酸之外，通过化学合成或生物工程方法引入蛋白质中的特殊氨基酸。

非天然氨基酸的功能应用

通过向目标蛋白质中定向引入非天然氨基酸，能够赋予原有的靶蛋白以共价结合邻近蛋白质、携带荧光基团、模拟蛋白质的翻译后修饰等新的生物学特性。



Li, Qingke et al. *Cell* vol. 182,1 (2020): 85-97.e16.
非天然氨基酸生成共价蛋白质药物，治疗效果相当或优于抗体药物

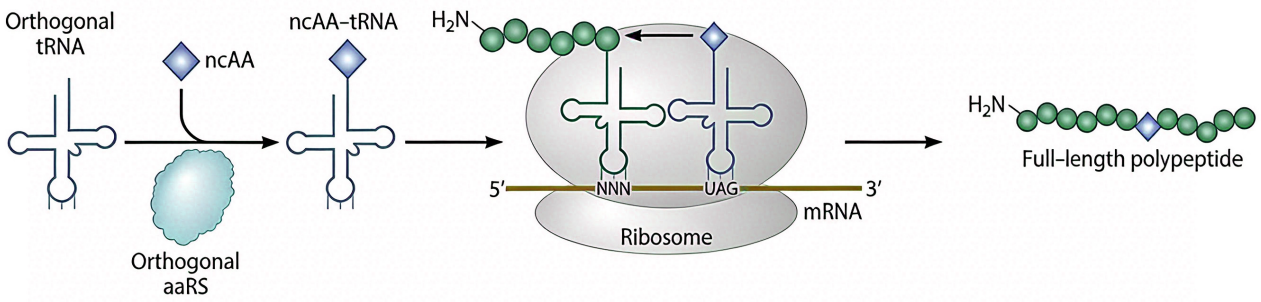
Koehler, Christine et al. *ACS chemical biology* vol. 18,3 (2023): 443-448.
非天然氨基酸产生位点特异性抗体 - 偶联药物

Zhu, Chaoyang et al. *ACS central science* vol. 9,6 1229-1240. 6 Jun. 2023
修饰抗原进行免疫，提高特定靶点的抗体产物特异性

非天然氨基酸在医药开发方面的应用示例

非天然氨基酸的掺入途径

将编码基因中计划插入非天然氨基酸位置的密码子修改为空余的终止密码子（如 TAG），在 CFPS 系统中添加非天然氨基酸的正交翻译系统，包括 $tRNA^{TAG}$、特定的非天然氨基酸和对应的氨酰 tRNA 合成酶（aaRS），从而在蛋白翻译时定点插入非天然氨基酸。



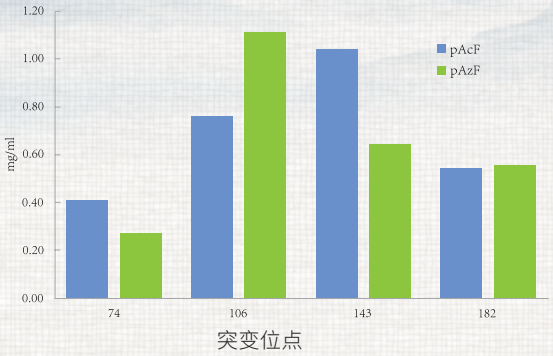
利用正交翻译系统插入 ncAA 示意图

为什么 CFPS 更适合非天然氨基酸掺入？

- 无细胞环境避免了细胞内代谢对 ncAA 的降解
- 不受细胞毒性限制，可表达对细胞有毒的蛋白质
- 可精确控制 ncAA 的浓度和添加时间
- 便于优化反应条件以提高 ncAA 的掺入效率

我们的解决方案

愚公生物 & 百时美生物推出适配 4-乙酰基-L-苯丙氨酸 (pAcF)、4-叠氮基-L-苯丙氨酸 (pAzF) 或 Nε-巴豆酰基-L-赖氨酸 (Kcr) 的专用 CFPS 试剂盒，实现非天然氨基酸的高效掺入，为蛋白修饰与工程化研究提供专属解决方案。



愚公生物 & 百时美生物已开发三种非天然氨基酸的 CFPS 试剂盒，可利用琥珀密码子 TAG 在目的蛋白中定点插入 4- 乙酰基 -L- 苯丙氨酸 (pAcF)、4- 叠氮基 -L- 苯丙氨酸 (pAzF) 或 Nε- 巴豆酰基 -L- 赖氨酸 (Kcr)。

产品矩阵

基础版本

标准裂解物体系，覆盖不同目标蛋白

1.1	普通款	多数常规蛋白、毒性蛋白
1.2	Pro 款	难溶蛋白
1.3	Max 款	含二硫键蛋白、抗体片段

专用款

在基础体系上做功能增强

2.1 ncAA 蛋白专用款

pAzF/pAcF/Kcr/AcrK/NaeK

用途 : 蛋白定点标记、交联，表观遗传研究，药物开发等

2.2 VHH 版

VHH/VHH-Fc

用途 : 用于纳米抗体的高通量筛选、快速制备。

订购信息

货号	名称	规格
EG24110S/M/L	2× S705 HiFi Master Mix	1ml/5ml/20ml
EG25109S/M	phi29 II DNA Polymerase	500U/2500U
EG26310S/M	Cell-Free Protein Synthesis Kit For VHH	20 rxns/100 rxns
EG24301S/M	Cell-Free Protein Synthesis Kit	20 rxns/100 rxns
EG24302S/M	Cell-Free Protein Synthesis Kit (Lyophilized)	20 rxns/100 rxns
EG25301S/M	Cell-Free Protein Synthesis Kit Pro	20 rxns/100 rxns
EG25303S/M	Cell-Free Protein Synthesis Kit Pro (Lyophilized)	20 rxns/100 rxns
EG25302S/M	Cell-Free Protein Synthesis Kit Max	20 rxns/100 rxns
EG25304S/M	Cell-Free Protein Synthesis Kit Max (Lyophilized)	20 rxns/100 rxns
EG25330S	Cell-Free Protein Synthesis Kit (pAcF)	20 rxns
EG25331S	Cell-Free Protein Synthesis Kit (pAzF)	20 rxns
EG25332S	Cell-Free Protein Synthesis Kit (Kcr)	20 rxns

愚公生物微信公众号　愚公生物科研小助手　愚公生物微信视频号

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd.
Add：中国（江苏）自贸区连云港片区跃湖路 28 号国际医药创新产业园 E 栋第 2 层
Tel: 0518-8558 6628 · support@best-enzymes.com · www.best-enzymes.com

ver. 202611