

附件 7.抗体赛道实验测试流程与评分规则

抗体赛道实验测试流程与评分规则

抗体赛道围绕靶点 PVRIG 开展抗体设计与筛选，赛题目标为设计能够与 PVRIG 结合，并具备阻断其与天然配体 PVRL2 相互作用潜力的抗体分子。赛事采用多轮递进式评审机制，逐步从序列设计、实验可制备性到功能活性与综合答辩能力进行系统筛选，以遴选出兼具结合能力、阻断活性及模型迭代能力的优秀参赛团队和候选分子。

整体流程分为报名、初赛、迭代提交、复赛和决赛五个阶段。其中，初赛和复赛均需完整经过“初筛、复筛”的实验评审步骤，其评审结果作为参赛团队进入下一轮的依据。两者的区别在于：进入复赛前，晋级参赛团队需在迭代提交阶段重新提交 50 条候选抗体序列，该 50 条序列可以包含初赛阶段已提交的序列，也可以基于初赛结果进一步优化后重新设计。

一、初赛与复赛通用评分流程

初赛和复赛两个阶段均按照相同的技术评审路径开展，依次包括：

1、初筛环节：基于抗体表达量、纯度及 BLI 单浓度结合结果进行评审；

2、复筛环节：基于 BLI 多浓度亲和力测定及竞争 ELISA 检测获得的 IC_{50} 值进行评审。

各阶段评审结果将分别作为候选抗体分子进入后续实验环节、参赛团队进入后续赛程阶段的重要依据。初赛阶段结束后，主

主办方将根据复筛环节的综合结果，以各团队表现最优的候选抗体分子作为代表分子，确定获得迭代提交资格的团队名单；完成迭代提交及复赛入围审核后，相关参赛团队进入复赛。复赛阶段结束后，主办方将根据复筛环节的综合结果，确定各团队湿实验成绩，并据此确定进入决赛答辩的团队名单。

二、初筛环节

初筛环节旨在对报名阶段入围审核筛选出的候选抗体序列开展标准化重组表达和纯化，并对表达获得的候选抗体分子开展体外结合初步验证，综合评估其表达可行性、样品质量及对 PVRIG 的初步结合能力，并据此筛选进入复筛环节的候选抗体分子。相较于报名阶段入围审核主要基于序列层面的评估，初筛环节将进一步引入实验数据，重点考察候选分子在实际制备和初步功能检测中的表现。

（一）总体流程

通过报名阶段入围审核的候选抗体序列，将统一进入重组表达与实验初筛流程。主办方将对所有入围序列进行标准化处理，包括密码子优化、统一表达载体构建及统一检测流程，以尽可能减少系统差异带来的偏差，提高不同候选分子之间的横向可比性。完成表达、纯化和单浓度 BLI 检测后，主办方将依据表达量、纯度及结合结果进行综合评分和排序，筛选进入复筛环节的候选抗体分子。

（二）表达与构建要求

所有入围抗体序列均由主办方统一进行重组表达构建。常规抗体原则上统一构建为人 IgG1（human IgG1）骨架；如候选抗体为单域抗体（VHH）形式，则统一构建为 VHH-hFc 融合蛋白。为

提高表达效率和一致性，所有候选抗体序列在进入表达前均将进行密码子优化。密码子优化、载体构建及表达体系选择由主办方按统一流程执行，参赛团队提交的序列一经确认，原则上不再接受个性化表达条件调整。

表达采用 4 mL 或 10 mL CHO 瞬时表达体系。主办方将根据实验排产和样品情况选择适用体积。表达结束后，采用 Protein A 等亲和纯化手段一步纯化，获得后续检测所需抗体样品。

（三）表达量与纯度评估

初筛环节将对候选抗体分子的表达表现进行统计和评估。表达结果以纯化后实际获得的抗体量为基础，并结合培养体积换算为 Yield (mg/L)。原则上，候选抗体分子 Yield 不低于 25 mg/L 视为满足基本检测需求；对应 4 mL CHO 表达体系，原则上至少应获得 100 µg 纯化抗体，以支持后续纯度分析和 BLI 单浓度检测。对于表达量明显不足、样品量无法支撑完整检测的候选抗体分子，主办方有权降低其综合排序，必要时不予进入下一轮评估。

纯化完成后，主办方将对候选抗体进行质量检测，重点关注样品纯度及主要杂质情况。检测方式包括但不限于 SDS-PAGE 和 HPLC。原则上，候选抗体分子的 SDS 纯度和 HPLC 纯度均建议不低于 80%。该指标主要用于评估样品是否存在明显聚集、降解、杂质残留等影响后续分析的质量风险。对于纯度偏低但仍可完成检测的候选抗体分子，主办方将结合表达量和结合结果综合判断；对于纯度明显不达标、样品质量较差或检测可靠性不足的分子，可降低其排序，必要时不予晋级。

（四）BLI 单浓度初筛

在完成表达与纯化并确认样品满足基础检测要求后，主办方将采用 BLI（Bio-Layer Interferometry）单浓度方法对候选抗体分子与 PVRIG 的结合能力进行初步筛查。该步骤旨在快速识别具有明确结合信号的候选抗体分子，并初步区分不结合、弱结合及结合较好的分子，为后续 BLI 多浓度亲和力测定和竞争 ELISA 检测提供依据。

本环节采用基于 Protein A 生物传感器的捕获方式，将候选抗体分子固定于传感器表面，再检测其与可溶性人源 PVRIG 抗原的结合与解离行为。

单浓度 BLI 结果原则上分为结合、弱结合、不结合三类：在不低于 500 nM 的抗原浓度下，以 BLI 响应值(response shift, nm) 为判定指标，响应值 ≥ 0.1 nm 为结合， $0 \leq$ 响应值 < 0.1 nm 为弱结合，响应值 < 0 nm 为不结合。具体结果将结合响应信号强度、曲线形态、拟合质量及样品质量综合判定。

（五）综合排序与晋级原则

初筛环节将基于 BLI 单浓度结合结果、表达量/产量和纯度表现进行量化评分和加权排序。具体评分规则如下：

1、BLI 结合得分：结合得分为 100 分；弱结合得分为 50 分；不结合得分为 0 分

2、表达量/产量得分： > 100 mg/L 得分为 100 分；25–100 mg/L 得分为 60 分； < 25 mg/L 得分为 0 分

3、纯度得分：纯度 $< 80\%$ 得分为 60 分；纯度 80%–90% 得分为 80 分；纯度 $\geq 90\%$ 得分为 100 分

4、综合得分按以下权重计算：综合得分 = BLI 得分 $\times 0.7$ + 表达量得分 $\times 0.2$ + 纯度得分 $\times 0.1$

主办方将依据各候选抗体分子的综合得分进行排序。初赛和复赛的复筛晋级数量以对应阶段赛程安排为准。初赛阶段原则上按综合得分择优选取得分排名前 200 的候选抗体分子进入复筛；复赛阶段原则上择优选取排名前 15 支团队，并从中选择每队不超过 10 条、总计不超过 150 个候选抗体分子进入复筛。

（六）补充说明

1. 初筛环节所获得的 BLI 单浓度结果仅用于快速筛选，不等同于最终精确亲和力结论；候选抗体分子的最终结合能力和阻断潜力，仍需在复筛环节通过多浓度实验进一步确认。

2. 对于因样品量不足、纯度不达标或实验信号异常而无法获得完整检测结果的分子，主办方将根据实际情况决定是否纳入排序，或直接视为不具备进入下一轮条件。

三、复筛环节

复筛环节旨在对通过初筛环节的候选抗体分子开展更高精度的结合与功能验证，重点评估其对 PVRIG 的真实结合亲和力以及对 PVRIG-PVRL2 相互作用的阻断能力，从而筛选综合表现最优的候选分子，并作为团队晋级下一轮赛事的重要依据。与初筛环节主要用于快速识别具备初步结合能力的分子不同，复筛环节将进一步采用 BLI 多浓度亲和力测定和竞争 ELISA 检测，对候选分子的活性水平进行更系统、更严格的比较与排序。

通过初筛环节的候选抗体分子，将统一进入复筛实验流程。主办方将在统一实验平台、统一试剂条件和统一数据分析标准下，对所有候选抗体分子开展 BLI 多浓度亲和力测定和竞争 ELISA 检测。复筛环节所得结果将作为评估候选抗体分子结合活性、阻断

能力和综合竞争力的核心依据，并用于相应阶段的团队晋级、湿实验成绩统计及后续奖项评定。

（一）BLI 多浓度亲和力测定

复筛环节将采用 BLI (Bio-Layer Interferometry) 多浓度方法对候选抗体分子与 PVRIG 的结合亲和力进行测定。实验原理和基本操作流程与初筛环节单浓度 BLI 方法保持一致，即采用 Protein A 生物传感器捕获候选抗体，再检测其与可溶性人源 PVRIG 抗原的结合与解离行为。与初筛环节不同的是，复筛环节将采用 5 个浓度梯度的抗原进行检测，以获取更稳定、准确的动力学数据，并基于全浓度拟合结果计算各候选分子的 K_d 值。

在统一实验条件下，主办方将对所有候选分子的多浓度结合曲线进行拟合分析，并依据拟合所得 K_d 值进行排序。原则上， K_d 值越低，表明亲和力越强，排序越靠前。 K_d 排名采用由低到高的排序方式，排名第 1 的候选分子记 100 分，其后每下降 1 个名次递减 2 分。该得分用于后续赛道综合评分。若候选分子多浓度 K_d 无法拟合，或经判定为不结合，则该项记 0 分。

（二）竞争 ELISA 检测

复筛环节将进一步通过体外阻断实验，检测候选抗体阻断人 PVRIG 与其天然配体人 PVRL2 结合的能力，并计算相应的 IC_{50} 值。该实验旨在直接评估候选抗体对靶点功能位点的阻断效果，是判断候选抗体分子功能活性的重要依据。

竞争 ELISA 检测具体方法可参考如下：将带有人源 PVRIG 重组蛋白包被于 96 孔酶标板上，在候选抗体充分结合并占据相关表位后，再加入带 His 标签的人源 PVRL2 蛋白。随后通过检测 His 标签信号，计算 PVRIG 与 PVRL2 的结合量，并据此分

析候选抗体对二者相互作用的阻断效果，最终计算其 IC_{50} 值。实际操作过程中，主办方可根据实验条件、样品状态及预实验结果对具体实验参数和操作细节进行合理调整，但不改变该项测试的基本原理和评估目标。

主办方将依据各候选抗体分子的 IC_{50} 值进行排序。原则上， IC_{50} 值越低，表明阻断活性越强，排序越靠前。 IC_{50} 排名采用由低到高的排序方式，排名第 1 的候选分子记 100 分，其后每下降 1 个名次递减 2 分；如候选分子无竞争活性，则该项记 0 分。

（三）综合评分

重点评价候选分子的结合亲和力和功能阻断活性。综合得分由 Kd 排序得分和 IC_{50} 排序得分构成，权重分别为 0.5 和 0.5。即：

$$\text{综合得分} = \text{Kd 排序得分} * 0.5 + \text{IC}_{50} \text{ 排序得分} * 0.5$$