

南方医科大学本科专业教学大纲

抗体工程

Antibody Engineering

适用专业：生物技术

执笔人：郝文波

审定人：吴英松

学院负责人：马骊

南方医科大学教务处

二〇一九年六月

一、课程简介

课程代码：B070004

学 分：4 分

学 时：64 学时

先修课程：免疫学、分子生物学

后续课程：生物诊断技术、生物制药学

适用专业：生物技术

抗体工程是现代生物技术的重要组成部分，是生物技术专业本科生的必修课。抗体的研究成果已广泛地应用于生命科学及临床医学各领域，并为新药开发、疾病诊断及防治开拓了新的前景。本课程主要介绍了各种抗体工程技术的基本原理与技术要点，使学生了解抗体领域的最新研究进展，为从事抗体的研究和应用打下坚实的基础。主要内容包括：抗体的分子结构、基因结构、生物学功能；单克隆抗体技术；基因工程方法改造抗体的技术；抗体库制备技术；转人抗体基因小鼠的技术；抗体的表达及应用等。要求学生掌握有关的原理和最新技术进展，并体会到理论和技术的相互促进作用。

Antibody engineering is an important part of modern biotechnology and a compulsory subject for students major in biotechnology. Antibodies are wonderful things which have been applied in medicine and science widely. The course presents a practical overview of the engineering of recombinant human or mouse monoclonal antibodies and addresses essential topics such as antibody structure relevant to antibody engineering, recombinatorial cDNA libraries, phage display, synthetic and humanized antibodies, engineering of affinity and biological effector functions, and plant, mammalian, and bacterial expression vectors and hosts. Students will demonstrate an understanding of the basic principles and the latest developments in this course and realize the mutual improving between theory and technique.

二、教学内容与要求

课程主要内容：

1. 抗体研究的历史及抗体生产的免疫学基础；
2. 抗体的分子和基因结构；
3. 抗体的生物学功能；
4. 多克隆抗体；
5. 单克隆抗体；
6. 基因工程抗体；
7. 抗体库技术；

8. 抗体的表达;
9. 转人-Ig 基因小鼠;
10. 抗体的分离、纯化及测定技术;
11. 抗体的应用;
12. 抗体研究新进展。

课程重点:

1. 抗体的分子和基因结构;
2. 多克隆抗体;
3. 单克隆抗体;
4. 基因工程抗体;
5. 抗体的分离、纯化及测定技术;

课程难点:

1. 抗体库技术;
2. 转人-Ig 基因小鼠;

教学要求:

在课程的讲授中,要求学生掌握有关抗体的论理及抗体应用研究的新技术、新方法和新进展,要求学生体会到理论和技术的相互促进作用以及创造性思维在科学研究中的重要性。

第一章 概论

一、目的和要求

掌握抗体、抗原的概念及抗体生成的免疫学基础,了解抗体研究的历史。

二、主要内容

1. 抗体研究的历史

从抗体一词的由来、抗体生成的理论、抗体的结构及其多样性、抗体产生技术等几方面回顾抗体研究的进展。

2. 抗体生成的免疫学基础

抗体是由 B 淋巴细胞产生的。B 淋巴细胞来源于骨髓的干细胞并在骨髓中成熟。抗原经血或淋巴进入周缘淋巴组织与成熟的 B 淋巴细胞相遇并使后者活化,导致其进一步增殖及分化,最终成为抗体分泌细胞。

3. 抗原与抗体

凡能与抗体结合的物质均可称为抗原,抗原依其性质可分为小分子的半抗原及大分子抗原。抗原抗体反应的实质是抗体 V 区的互补决定区所形成的三维构象与抗原高级结构表面的决定簇之间的反应,为非共价键结合,其维系力包括静电、氢键、范德华力及疏水反应等。

三、学习重点和难点

重点：抗体、抗原的概念。

难点：抗体生成的免疫学基础。

四、教学方法

课堂讲授 3 学时。

第二章 抗体的结构与功能

一、目的和要求

掌握抗体的分子结构及生物学功能；熟悉抗体的基因结构与重排；了解抗体多样性的生成机制。

二、主要内容

1. 抗体的分子结构

抗体分子的基本结构是 2 个相同重链和 2 个相同轻链组成的 4 聚体，其肽链由具有特征性结构的功能区组成，氨基端为可与抗原特异结合的可变区，可变区以外的功能区为恒定区。抗体分子具有不均一性，包括同种型、同种异型和独特型。

2. 抗体分子的基因结构和重排

抗体分子的基因结构比较复杂，轻链是由 3 段基因（V、J、C）分别编码，重链由 4 段基因（V、D、J、C）分别编码，胚系中存在数十至上百个 V 基因段，数十个 D 基因段和数个 J 基因段，在干细胞分化发育成 B 细胞的过程中发生 V-J 或 V-D-J 重组，形成有转录活性的轻链或重链基因。成熟 B 细胞经抗原激活后还可发生体细胞突变，经过正负选择，提高所生成抗体的亲和力，称为亲和力成熟。胚系细胞固有的多样性、B 细胞发育过程中 V（D）J 重排以及体细胞突变共同形成了抗体多样性的生成机制。

3. 抗体的生物学功能

抗体的分子结构和基因结构具有明显的两重性，其功能也相应具有两重性：一是与抗原的特异性结合，由可变区完成，二是与抗原结合后激发的效应功能，由恒定区完成。

三、学习重点和难点

重点：抗体的分子结构及生物学功能。

难点：抗体的基因结构与重排。

四、教学方法

自主学习 6 学时。

第三章 多克隆抗体

一、目的和要求

掌握多克隆抗体的概念及制备程序，了解蛋黄抗体的概念及应用。

二、主要内容

1. 多克隆抗体的概念

抗原通常是由多个抗原决定簇组成的，由多种抗原决定簇刺激机体产生各种各样的抗体混杂在一起就是多克隆抗体。

2. 多克隆抗体的制备技术

从免疫动物、佐剂、抗体的鉴定、抗体保存等几方面介绍多克隆抗体的制备过程。

3. 多克隆抗体的应用方向和特征

从多克隆抗体在治疗和诊断两方面进行介绍多克隆抗体的特点和应用方式。

4. 单特异性抗体

作为通过制备技术生产的一种特殊多抗在抗体应用中的特点和优势

5. 蛋黄抗体（IgY）

蛋黄抗体是指蛋黄中存在的抗体，与哺乳动物 IgG 类似，但二者之间在分子量、等电点、细胞膜上 Fc 受体的键结构等方面略有不同，目前蛋黄抗体在兽医临床和其它方面都有广泛的应用。

三、学习重点和难点

重点：多克隆抗体的概念及制备程序。

四、教学方法

自主学习 3 学时。

第四章 单克隆抗体

一、目的和要求

掌握单克隆抗体产生的原理及基本研制方法；熟悉单克隆抗体的主要应用；了解兔单克隆抗体的制备与应用。

二、主要内容

1. 鼠源单克隆抗体的产生历史与原理

单克隆抗体杂交瘤的基本研制过程是将生化缺陷型骨髓瘤细胞与经抗原免疫的同种系 B 细胞进行融合，并从中筛选出既保持骨髓瘤细胞能无限增殖特性、又保持 B 细胞分泌抗体特性的杂交瘤融合细胞。细胞融合和融合细胞的筛选是杂交瘤抗体技术的技术基础。

2. 鼠源单克隆抗体的制备

鼠源单克隆抗体主要包括小鼠单克隆抗体和大鼠单克隆抗体，其制备过程基本相似。杂交瘤制备分为融合前的准备、细胞融合及融合后对杂交瘤的管理三个阶段。准备阶段主要解决实验的设备和材料，以及融合前建立各种有关的方法，如免疫、筛选方法。融合后的管理主要是杂交瘤的筛选、克隆、冻存和制备抗体。

3. 兔单克隆抗体

兔单克隆抗体是从转基因兔中提取的骨髓瘤样细胞与免疫兔脾细胞融合制备的单克隆抗体，与传统鼠单抗相比，兔单抗对抗原具有更高的亲和力、能识别更多的抗原表

位，因而在免疫学检测和抗体药物领域具有更大的应用开发潜力。

4. 单克隆抗体的应用

单克隆抗体在生命科学研究领域中应用极为广泛，包括细胞受体的表达及结构研究、细胞的分类、未知蛋白的功能研究、细胞内的表达定位、新基因的克隆及其表达产物的鉴定、微生物的分型、临床各类感染性疾病的诊断、细胞内某些特异表达产物的测定及单抗作为药物在人体内的应用等。

三、学习重点和难点

重点：鼠源单克隆抗体的制备方法、流程。

难点：鼠源单克隆抗体的原理。

四、教学方法

自主学习 3 学时+课堂翻转 3 学时。

第五章 基因工程抗体

一、目的和要求

掌握鼠单抗人源化的基本方法；掌握小分子抗体、双（多）价及双特异抗体分子、抗体融合蛋白的基本概念及应用；了解上述各种抗体分子的构建策略。

二、主要内容

1. 基因工程抗体的定义

从基因工程抗体的制备与传统免疫学天然抗体进行对比介绍基因工程抗体的特点和定义。

2. 特异性抗体基因的获取

通过用 RT-PCR 方法从单克隆抗体细胞的 mRNA 中扩增 VH 及 VL 基因以及用探针或者 PCR 从基因组文库中钓取两种思路介绍获得特异性抗体基因的方法。

3. 鼠单抗人源化

分为恒定区的人源化和可变区的人源化，前者操作简便，但人源化程度稍低，后者技术难度较大，但人源化程度较高。抗体库技术的出现为人源化提供了新的手段，但技术路线尚需进一步成熟。

4. 小分子抗体

介绍抗体小型化的必要性，以及小分子抗体的定义和特点。分子量较小的具有抗原结合功能的分子片段，称为小分子抗体。其优点为分子量小、穿透性强、易于构建及表达，主要包括 Fab、ScFv、dsFv 及单区抗体等。以纳米抗体的制备和应用作为例子介绍小分子抗体的发展方向和优势。

5. 双（多）价及双特异抗体分子

增加抗体的结合价可提高抗体的生物学性能，双特异抗体可产生特殊的生物学效应，具有良好的应用前景。其构建方式多种多样。

6. 抗体螯合物和抗体融合蛋白

包括抗体和生物大分子和化学分子螯合形成具有特殊功能的分子导弹以及包括含 Fv 段的融合蛋白和 Fc 段的融合蛋白，前者主要用于免疫靶向，将选择的生物学活性靶向至特定的部位，也可用于免疫桥连或构建嵌合受体。后者称为免疫粘附素，在科学研究和临床治疗中均有应用价值。

三、学习重点和难点

重点：各种基因工程抗体的基本概念及应用；

难点：鼠单抗人源化的基本方法。

四、教学方法

课堂讲授 9 学时。

第六章 抗体库技术

一、目的和要求

掌握噬菌体抗体库制备及筛选的基本技术；熟悉大容量抗体库的概念与类型；了解抗体库技术的主要应用方向。

二、主要内容

1. 抗体库的技术基础和基本内涵

抗体库技术是 90 年代抗体工程领域的重大进展，它的出现有赖于 PCR 技术的建立、抗体分子在大肠杆菌的功能性表达以及噬菌体展示技术的发展。初期的抗体库是利用 λ 噬菌体载体，通过噬菌斑印迹筛选抗体的抗体库技术。3 种构建策略所获得的大容量抗体库：天然库、半合成库及全合成库均取得成功，使不经免疫制备抗体成为现实。

2. 噬菌体抗体库技术

噬菌体抗体库的表达载体可分为 λ 噬菌体 (phage λ)、单链丝状噬菌体 (filamentous phage) 及噬菌粒 (phagemid) 三种系统。这三种系统各有其利弊。将肽链通过与单链噬菌体外壳蛋白融合表达在单链噬菌体的表面。利用其可以再扩增的特性，将靶分子固相化，通过亲和吸附—洗脱—扩增，可筛选到靶分子的配体肽链。可经突变和链置换方法改进抗体亲和力，最终获得高亲和力的特异性抗体。

着重介绍噬菌粒系统介绍基于噬菌体 gIII 和 gVIII 蛋白的不同载体可以筛选出不同亲和力的抗体基因。

3. 大容量抗体库

大容量抗体库的构建技术在不断完善，通过反复连接、转化所获抗体库的容量可达到 10^{10} 。

4. 抗体库技术的应用

噬菌体抗体库的突出用途有二个：一是解决了人源抗体的制备难题，可通过噬菌体抗体库或大容量抗体库制备人单抗，也可用抗体库技术进行鼠单抗人源化。二是抗体库技术使抗体性能的改良进入了新的阶段：可以筛选具有特定性能的未知结构，如优化抗体的结构、提高抗体的表达量、改善抗体的特异性等，尤其是利用抗体库技术在体外进

行亲和力成熟。

三、学习重点和难点

重点：噬菌体抗体库制备及筛选的基本技术。

难点：理解大容量抗体库的概念。

四、教学方法

自主学习 3 学时+课堂讲授 3 学时。

第七章 转人-Ig 基因小鼠

一、目的和要求

掌握转人-Ig 基因小鼠的概念、原理；熟悉制备转人 Ig 基因小鼠的主要步骤；了解转人 Ig 基因小鼠的构建过程。

二、主要内容

1. 概述

转基因小鼠的概念：除了固有的基因组外，小鼠体内还有一个或以上外来转入基因，它能表达和体现转入基因的功能，实现特定目的。

转人-Ig 基因小鼠制备主要步骤：获得人免疫球蛋白基因（重链 IgH 和轻链 Igk）；小鼠 ES 细胞的培养；小鼠内源性免疫球蛋白基因重链 IgH 和轻链 Igk 的敲除灭活；获得含完整人 Ig-VACs 克隆；Ig-VACs 克隆向 ES 细胞的导入；含人 Ig-VACs 的 ES 细胞移入小鼠胚胎；含人 Ig-YACs-ES 细胞的小鼠胚胎向小鼠体内的送还和嵌合，纯合小鼠的产生及鉴定；通过纯合小鼠制备特异性完全人源化抗体。

2. 人工染色体技术

了解人工染色体载体的特点和含人免疫球蛋白-人工染色体文库的构建及筛选过程。

3. 小鼠胚胎干细胞

了解小鼠胚胎干细胞分离培养的基本步骤及其应用。

4. 基因敲除技术

了解基因敲除技术和小鼠内源性免疫球蛋白基因的敲除。

5. 含人免疫球蛋白转基因小鼠的构建

构建过程包括：含人免疫球蛋白-酵母人工染色体克隆向小鼠胚胎干细胞的导入（Ig-YACs-ES 细胞的形成）；小鼠胚胎的制备和 Ig-YAC-ES 细胞向小鼠胚胎的植入；含人 Ig-YAC-ES 细胞的小鼠胚胎送还小鼠体内和产生含人免疫球蛋白基因的嵌合小鼠；含人免疫球蛋白纯合小鼠的制备；从含人免疫球蛋白纯合小鼠制备特异的完全人源化抗体。

6. 转基因小鼠的种系的建立

三、学习重点和难点

重点：转人-Ig 基因小鼠的概念、原理。

难点：转人 Ig 基因小鼠的构建过程。

四、教学方法

自主学习 3 学时+课堂讲授 3 学时。

第八章 抗体的表达

一、目的和要求

掌握几种抗体表达体系的特点；了解不同表达体系中影响抗体表达效率的因素。

二、主要内容

基因工程抗体已在多种体系获得成功表达，包括哺乳动物细胞、大肠杆菌、酵母细胞、昆虫细胞、转基因植物以及转基因动物等表达体系。

1. 哺乳动物细胞表达系统

哺乳动物细胞最接近抗体产生的天然宿主，是比较成熟、应用最多的表达体系，主要用于表达完整抗体分子，目前治疗性单抗的生产基本都用这一表达体系。通过对表达载体、宿主细胞及各环节的改良和完善，已达到 100mg/L 左右的表达水平。

2. 大肠杆菌表达系统

大肠杆菌体系不能对表达产物进行糖基化，只能表达抗体分子片段，但由于其遗传背景清楚，操作简单，成本低，周期短等优点，亦有较广泛的应用，尤其在研究领域。主要应用于小分子抗体的表达。高效表达系统的利用可以有效的扩大抗体的产能。

3. 抗体在酵母及昆虫细胞中的表达

酵母细胞和昆虫细胞表达体系具有一定的糖基化功能，能表达完整抗体分子，可达到较高表达量，其操作及成本较哺乳动物细胞有一定优势，但在抗体表达中的应用尚不多，应用价值有待评价。

4. 动植物表达系统

转基因植物和转基因动物表达体系主要用于工程抗体的大规模生产，其成功应用尚需时日。着重利用植物抗体举例，列举植物表达系统及植物生物反应器在抗体制备中的优势和前景。

三、学习重点和难点

重点：各种抗体表达体系的特点。

四、教学方法

课堂讲授 3 学时。

第九章 抗体的分离、纯化、测定及储存

一、目的和要求

掌握抗体分离、纯化的一般方法；了解抗体特异性和亲和力测定的各种方法。

二、主要内容

1. 抗体的结构、分类与性质

简单复习各种不同来源抗体分子的结构特点和基本性质。

2. 抗体的分离纯化

介绍用于抗体分离、纯化的一些方法，包括盐析法、膜技术法、各种色谱法等。

3. 抗体的储存

介绍防止抗体的微生物污染方法及抗体的储存温度、储存时间及不同来源抗体的储存方法。

4. 抗体的鉴定

抗体的鉴定包括抗体纯度、含量及活性的测定，也包括抗体特异性和亲和力的测定。

三、学习重点和难点

重点：抗体分离、纯化方法。

难点：抗体特异性和亲和力测定的各种方法。

四、教学方法

自主学习 3 学时+讨论答疑 2 学时。

第十章 抗体的应用

一、目的和要求

了解抗体在生命科学和临床医学中的应用。

二、主要内容

1. 抗体在免疫诊断中的应用。
2. 抗体在免疫治疗中的应用。
3. 抗体在免疫预防中的应用。
4. 抗体在生命科学研究中的应用。
5. 抗体在其它领域中的应用。

三、教学方法

自主学习 2 学时。

十一 抗体研究新进展

一、目的和要求

抗体的研究日新月异，通过三次抗体研究前沿讲座使学生更深入地了解抗体方面从理论到工程技术的发展现状。

二、主要内容

1. 治疗性抗体
2. 抗体芯片
3. 抗体组学

三、教学方法

课堂讲授 6 学时+课堂翻转 6 学时。

三、实验（见习）内容与要求

抗体工程实验课将于第7学期开设，见“细胞工程与抗体工程综合性实验”。

四、扩展性教学内容

为了括宽学员对本门课程的知识面，在计划课时外，可酌情安排专题讲座，介绍抗体生成技术及抗体应用技术的最新进展。对学有余力的学员可指导开展课余兴趣小组活动，开阔学生知识视野，启迪思维，培养学生的创新意识和创新能力。

五、教材与教学资源

教材：郝文波主编，《抗体工程》，自编教材，2007

参考书目文献：

董志伟、王琰主编，《抗体工程》，北京医科大学出版社，2002

甄永苏，邵荣光主编，《抗体工程药物》，化学工业出版社，2002

王延华，李官成，Xin-Fu Zhou 主编，《抗体理论与技术》，科学出版社，2005

[美] E. 哈洛、D. 莱恩 编著；沈关心、龚非力等译，《抗体技术实验指南》，科学出版社，2002

课程相关主要网站：

<http://www.easyantibody.com>

<http://www.antibody168.com>

<http://www.antibodyweb.com>

六、考核

成绩评定：本课程采用平时考查与期末考试相结合的考核方法，平时成绩占50%，要求通过在线课堂学习完成情况、课后测试、课堂作业、讨论和互动评价、翻转课堂评价等形式了解学生对课程的学习状况。期末考试成绩占50%，命题要求覆盖大纲，题型灵活，难易适中，着重考查学生对基本理论的掌握，分析问题的能力。

考核形式：停课、闭卷考试。

计分方法：百分制。

考试的侧重点、大致分数分配：

序号	课程的构成部分	大致分数分配 (%)
1	抗体的结构与功能	20%

2	多克隆抗体、单克隆抗体、基因工程抗体、抗体相关技术	55%
3	抗体库、转基因小鼠、抗体的表达、抗体的应用	25%
总计		100%

附：考核命题计划双向细目表

章节 \ 题数		题型						合计
		客观型（固定应答型）试题			主观型（自由应答型）试题			
		单选	多选	名词解释		简答	论述	
1	概论	2	1					3
2	抗体结构与功能	8	5	1				14
3	多克隆抗体	3	1			1		5
4	单克隆抗体	3	2			1	1	7
5	基因工程抗体	6	2	1			1	10
6	抗体库技术	2	2	1		1		6
7	转人 Ig 基因小鼠	3	2	1		1		6
8	抗体的表达	2	2					4
9	抗体分离、纯化及测定	4	2	1				7
10	抗体的应用	2	1					3

七、教学时数分配

章节	理论课内容	学时
第一章	概论/ Conspectus	3
第二章	抗体的结构与功能/Structure and function of antibody	6
第三章	多克隆抗体/Polyclonal antibody	3
第四章	单克隆抗体/Monoclonal antibody	6
第五章	基因工程抗体/Recombinant antibody	9
第六章	抗体库技术/ Antibody library	6
第七章	转人-Ig 基因小鼠/Transgenic mice	6
第八章	抗体的表达/Expression of antibody	3
第九章	抗体的分离、纯化及测定/Isolation, purification and determination of antibody	5

第十章	抗体的应用/Application of antibody	2
十一	抗体研究新进展讲座	12
十二	考试	3
理论课总学时数		64

八、课程实施要求及相关说明

本门课程在教务部统一组织下实施。课程采取大班教课、分组试验的方式进行。教学主要采取授课、讨论、提问、多媒体课件、实验、课后习题、操作、辅导和考核等方法。在课程的讲授中，注重创新型和实用型人才的培养，着重培养学生发现问题、分析问题和解决问题的能力，将课外科研活动作为培养学生科研素质的重要方式。要求学生了解有关的原理和最新技术进展，要求学生体会到理论和技术的相互促进作用以及创造性思维在科学研究中的重要性。